

3

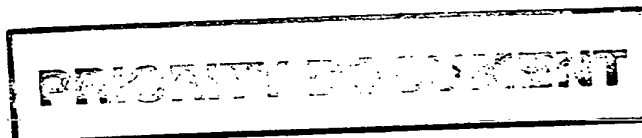


REC'D 20 APR 1998

WIPO PCT

09/367496

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

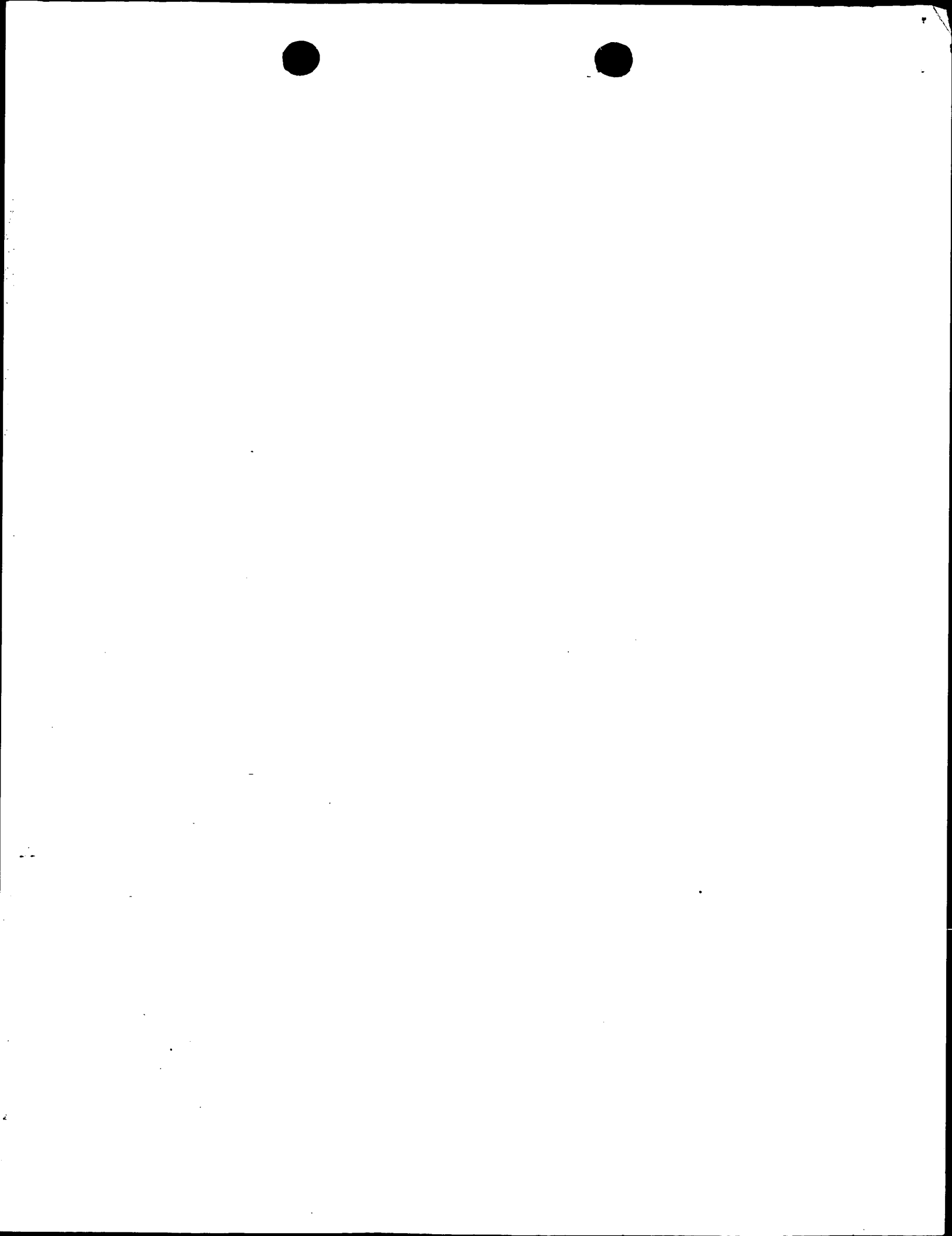
Fait à Paris, le **25 FEV. 1998**

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département

Martine PLANCHE

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30



REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT
DATE DE DÉPÔT

19.FEV.1997
97 01961 -
fs
19.2.97

2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention ☐ demande divisionnaire
☐ certificat d'utilité ☐ transformation d'une demande de brevet européen

☐ demande initiale
☐ brevet d'invention

Établissement du rapport de recherche ☐ différé ☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance ☐ oui ☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

Utilisation des protéines ULIP dans le diagnostic et la thérapie des cancers et des syndromes neurologiques paranéoplasiques.

3 DEMANDEUR (S) n° SIREN code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (INSERM)

Forme juridique

Nationalité (s) Française

Adresse (s) complète (s)

101 Rue de Tolbiac, -75013 PARIS

Pays

FR

4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs ☐ oui ☒ non

En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES ☐ requise pour la 1ère fois ☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n° date n° date

8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (nom et qualité du signataire - n° d'inscription)

CABINET LAVOIX
M. MONCHENY n° 92.1179

N. Moncheny

SIGNATURE DU PREPOSÉ À LA RECEPTION

SIGNATURE APRES ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE A L'INPI

[Signature]



BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITE

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Petersbourg
75800 Paris Cédex 08
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

97 01 961

TITRE DE L'INVENTION : Utilisation des protéines ULIP dans le diagnostic et la thérapie des cancers et des syndromes neurologiques paranéoplasiques.

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)
101 Rue de Tolbiac, 75013 PARIS FRANCE

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénoms, adresse et souligner le nom patronymique) :

AGUERA Michèle
33A chemin des Petites Brosses 69300 CALUIRE FRANCE

BELIN Marie-Françoise
85bis, Avenue du Point du Jour 69005 LYON FRANCE

HONNORAT Jérôme
46 rue de la Marne 69500 BRON FRANCE

KOLATTUKUDY Pappachan
2301 Hoxton CT Columbus OH 43220 U.S.A.

QUACH Thanh Tam
11 rue Antoine Lumière 69008 LYON FRANCE

BYK Tamara
8, rue Edmond de Goncourt 94000 CRETEIL FRANCE

SOBEL André
10, rue du Chevaleret 75013 PARIS FRANCE

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Paris, le 19 août 1997

CABINET LAVOIX
M. MONCHENY n° 92.1179

L'invention concerne l'utilisation des protéines dénommées ULIP/POP dans le diagnostic et la thérapie des cancers et des syndromes neurologiques paranéoplasiques.

Les syndromes neurologiques paranéoplasiques (SNP) surviennent à l'occasion d'un cancer, souvent avant sa découverte et ne sont liés ni à la prolifération tumorale elle-même (envahissement direct, métastases) ni à la thérapie. Leur fréquence est globalement estimée à environ 1 % des cancers. Plusieurs tableaux cliniques ont été depuis longtemps individualisés (encéphalomyélite, neuropathie sensitive de Denny Brown, atrophie cérébelleuse, encéphalite limbique, opsoclonus, ...) correspondant en fait à l'atteinte soit élective soit préférentielle de certains groupes de neurones. La fréquence des cellules inflammatoires au voisinage des lésions avait fait évoquer depuis de nombreuses années la possibilité d'un processus auto-immun ou viral. La mise en évidence, plus récente, d'auto-anticorps dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien (LCR) de patients souffrant de SNP, spécifiques du type de tumeur et du type de neurones qui dégénèrent, a relancé l'hypothèse d'une participation de l'auto-immunité dans la genèse de cette pathologie (Graus et al., 1985 ; Greenlee et al., 1983).

Outre la présence d'un titre élevé de ces anticorps dans le sang et le LCR des patients, il existe plusieurs arguments suggérant que les SNP relèvent de mécanismes auto-immuns. Ainsi, les antigènes reconnus dans le système nerveux central sont aussi présents dans les tumeurs des patients (Anderson et al., 1987). Au sein du tissu tumoral, on retrouve des anticorps spécifiquement dirigés contre ces antigènes ainsi que des lymphocytes B et T (Hetzl et al., 1990).

Ces données suggèrent que le processus auto-immun serait déclenché par l'expression d'antigènes tumoraux. Un processus d'immunité croisée provoquerait les lésions du système nerveux central. D'autres arguments indiquent en outre que les lésions cérébrales résultent de la réponse auto-immune. Ainsi, dans le cerveau des patients, le titre des anticorps spécifiques est supérieur à celui du sérum et du LCR (Dalmau et al., 1991). De plus, dans le cas des encéphalomyélites associées aux anticorps anti-Hu, il existe une réaction lymphocytaire intense, composée de cellules B et T, située à proximité de neurones en voie de destruction (Dalmau et al., 1991 ; Graus et al., 1990).

Plusieurs types d'auto-anticorps permettant des regroupements syndromiques précis en fonction de critères immunologiques, neurologiques et carcinologiques ont été décrits.

Ainsi, les anticorps anti-Yo sont retrouvés dans le sérum et le LCR de femmes présentant une atrophie cérébelleuse paranéoplasique et un cancer gynécologique (ovaire, sein ou utérus) (Greenlee et al., 1983 ; Jaeckle et al., 1985).

Ces anticorps reconnaissent deux protéines cytoplasmiques de 34 et 62 kDa spécifiques des cellules de Purkinje du cervelet.

Les anticorps anti-Ri sont retrouvés dans le sérum et le LCR de patients (principalement des femmes) présentant un opso-myoclonus, un syndrome cérébelleux et un cancer du sein. Ces anticorps reconnaissent deux protéines de 50 et 80 kDa spécifiques des neurones du système nerveux central (Luque et al., 1991).

Les anticorps anti-Hu sont les plus fréquemment rencontrés au cours des SNP. Ils sont retrouvés dans le sérum et le LCR de patients présentant un syndrome de Denny-Brown ou une encéphalomyélonévrite

et un cancer du poumon à petites cellules (Graus et al., 1985 ; Dalmau et al., 1992). Ces auto-anticorps reconnaissent plusieurs protéines de 37 à 45 kDa exprimées spécifiquement par l'ensemble des neurones du système nerveux.

5 Récemment a été identifié chez des patients présentant un SNP un autre type d'auto-anticorps : les anticorps anti-CV2 (Antoine et al., 1993 ; Honnorat et al., 1996). Ces derniers sont atypiques, en ce sens que la cible antigénique reconnue à l'âge adulte est essentiellement non neuronale, alors que l'analyse du cerveau *post-mortem* de quatre patients
10 permet d'objectiver une perte neuronale, une gliose et un processus inflammatoire caractéristique des SNP.

 L'originalité de la découverte de ces auto-anticorps réside, d'une part, dans leur mise en évidence. Ces derniers avaient échappé à l'ensemble des investigations habituelles qui consistaient à
15 révéler les antigènes reconnus par immunohistochimie sur du cerveau *post-mortem*. L'antigène reconnu est en effet soluble et disparaît du cerveau *post-mortem* dans la plupart des conditions de fixation. Seule une fixation du tissu *post-mortem* humain par immersion dans le paraformaldéhyde ou *in situ* par perfusion de paraformaldéhyde chez
20 l'animal, a permis de révéler la présence de ces anticorps dans le LCR ou le sérum des patients atteints de SNP (Antoine et al., 1993 ; Honnorat et al., 1996).

 Les auto-anticorps anti-CV2 présents dans les sérums de patients atteints de syndrome neurologique paranéoplasique (SNP) ont
25 été définis par leur capacité à reconnaître, par immunohistochimie indirecte, un antigène cytoplasmique exprimé spécifiquement, dans le

cerveau de rat adulte, par une sous-population d'oligodendrocytes du tronc cérébral, de la moelle et du cervelet.

L'originalité de ces auto-anticorps réside, d'autre part, dans leur intérêt diagnostique. Leur présence dans le sérum ou le LCR de patients a valeur diagnostique puisqu'elle permet de préciser l'origine paranéoplasique d'un syndrome neurologique. La découverte de ces anticorps lorsqu'elle précède celle du cancer, oriente la recherche de celui-ci et permet sa découverte. Tel a été le cas pour six patients sur 19 présentant des anticorps anti-CV2. Les troubles cliniques étaient différents suivant les patients, certains présentaient un tableau d'encéphalite limbique, d'autres une encéphalomyélonévrite et d'autres un syndrome de Lambert-Eaton. Néanmoins, dans plus de 60 % des cas, le syndrome cérébelleux était prédominant. La tumeur la plus fréquemment associée était le cancer du poumon à petites cellules (60 % des cas).

Des expériences sur des cerveaux de rats nouveaux-nés ont montré que ces anticorps anti-CV2 réagissaient avec une protéine de 66 kDa (Honnorat et al., 1996).

Cet antigène se situe dans le cerveau adulte dans une sous-population d'oligodendrocytes ou dans des cellules qui gardent des capacités de différenciation dans le cerveau adulte (bulbe olfactif, gyrus denté). L'antigène reconnu jouerait un rôle dans la survie neuronale, via des interactions Neurone/Oligodendrocyte, comme le suggère la perte des neurones observée dans le cerveau *post-mortem* de patients atteints de SNP.

Son expression très restreinte à l'âge adulte contraste avec une expression très forte et transitoire dans le système nerveux central et

périphérique en développement, suggérant le rôle probable de cet antigène dans le développement du système nerveux.

La Demanderesse a caractérisé l'antigène cible des auto-anticorps anti-CV2 qui correspond à une protéine ci-après désignée par
5 «POP-66» pour « paraneoplastic oligodendrocyte protein 66 kDa ».

De manière surprenante, il a été découvert que la protéine POP-66 appartient à la famille des protéines dites ULIP (pour Unc-33 like phosphoprotein), impliquée dans le contrôle du développement neuronal et le transport axonal, (T. Byk et al., 1996) et étudiée aussi sous la forme
10 des protéines CRMP (Goshima et al., 1995, Wang et al., 1996), TOAD-64 (Minturn et al., 1995) et DRPs (Hamajima et al., 1996). Plus précisément, POP-66 a été identifiée comme étant en fait la forme humaine de ULIP-4.

L'ensemble des données décrit ci-après souligne la complexité de cette famille de protéines, l'existence d'un spectre
15 d'expression très large des membres de cette famille dans le cerveau au cours de l'ontogénèse, mais très restreint chez l'adulte, ainsi que la spécificité des anticorps anti-CV2 pour un membre de cette famille protéique ULIP, qui est en fait POP-66.

Ainsi, la Demanderesse a montré que la protéine reconnue
20 par les anticorps anti-CV2 de patients atteints de SNP est POP-66/ULIP-4 et a établi l'implication des protéines ULIP dans les syndromes neurologiques paranéoplasiques et les cancers associés. Outre leur rôle dans les cancers associés aux SNP, la Demanderesse a également découvert que les protéines de la famille ULIP pourraient jouer un rôle
25 dans toute autre forme de cancer, non associée aux SNP. Plus particulièrement, les protéines ULIP seraient notamment impliquées dans

les cancers de tissus ayant une origine embryonnaire commune avec le système nerveux central.

La présente invention a donc pour objet un polypeptide purifié ULIP, dérivé ou fragment polypeptidique dudit polypeptide purifié, comprenant une séquence d'acides aminés choisie parmi SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 et n° 8.

De manière préférentielle, la présente invention a pour objet un polypeptide purifié, dérivé, ou fragment polypeptidique biologiquement actif dudit polypeptide purifié, comprenant la séquence d'acides aminés SEQ ID n° 8, ledit polypeptide étant désigné par « POP-66/ULIP-4 ».

Dans la description de l'invention, on utilise les définitions suivantes :

- dérivé : tout polypeptide variant du polypeptide de séquence SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 ou n° 8 ou toute autre molécule résultant d'une modification de nature génétique et/ou chimique de la séquence SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 ou n° 8, c'est-à-dire obtenue par mutation, délétion, addition, substitution et/ou modification chimique d'un seul ou d'un nombre limité d'acides aminés, ainsi que toute séquence isoforme, c'est-à-dire une séquence identique à la séquence SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 ou n° 8 à l'un de ses fragments ou séquences modifiées, contenant un ou plusieurs acides aminés sous la forme d'énantiomère D, lesdites séquences variantes modifiées ou isoformes ayant conservé au moins l'une des propriétés les rendant biologiquement actives.

- Biologiquement actif : présentant des propriétés d'induction et/ou de contrôle du développement neuronal et/ou des propriétés antigéniques.

L'invention a également pour objet une séquence d'acides nucléiques isolée choisie parmi SEQ ID n° 1, n° 3, n° 5 et n° 7 ou une séquence dérivée des séquences SEQ ID n° 1, n° 3, n° 5 et n° 7 du fait de la dégénérescence du code génétique.

5 Les différentes séquences nucléotidiques de l'invention peuvent être d'origine artificielle ou non. Il peut s'agir de séquences d'ADN ou d'ARN, obtenues par criblage de banques de séquences au moyen de sondes élaborées sur la base des séquences choisies parmi SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 et n° 8. De telles banques peuvent être préparées par des
10 techniques classiques de biologie moléculaire, connues de l'homme de l'art.

Les séquences nucléotidiques selon l'invention peuvent également être préparées par synthèse chimique, ou encore par des méthodes mixtes incluant la modification chimique ou enzymatique de séquences obtenues par criblage des banques.

15 Ces séquences nucléotidiques permettent la réalisation de sondes nucléotidiques, capables de s'hybrider fortement et spécifiquement avec une séquence d'acides nucléiques, d'un ADN génomique ou d'un ARN messager, codant pour un peptide selon l'invention ou un fragment biologiquement actif de celui-ci. Les conditions d'hybridation appropriées
20 correspondent aux conditions de température et de force ionique usuellement utilisées par l'homme du métier (Sambrook et al., 1989), de préférence à des conditions de température comprises entre (T_m moins 5°C) et (T_m moins 30°C) et de préférence encore, à des conditions de température comprises entre (T_m moins 5°C) et (T_m moins 10°C) (forte stringence), T_m étant la
25 température théorique de fusion, définie comme étant la température à laquelle 50 % des brins appariés se séparent. De telles sondes font également partie de l'invention. Elles peuvent être utilisées comme outil de

diagnostic *in vitro* pour la détection, par des expériences d'hybridation, de transcrits spécifiques des polypeptides de l'invention dans des échantillons biologiques ou pour la mise en évidence de synthèses aberrantes ou d'anomalies génétiques résultant d'un polymorphisme, de mutations ou d'un mauvais épissage.

Les sondes de l'invention comportent au minimum 10 nucléotides, et au maximum comportent la totalité d'une séquence nucléotidique choisie parmi SEQ ID n° 1, n° 3, n° 5 et n° 7 ou de leur brin complémentaire.

Les méthodes de diagnostic *in vitro* dans lesquelles ces sondes nucléotidiques sont mises en oeuvre pour la détection de synthèses aberrantes ou d'anomalies génétiques, telles que la perte d'hétérozygotie et le réarrangement génétique, au niveau des séquences nucléiques codant pour un polypeptide ULIP selon l'invention ou un fragment biologiquement actif, sont incluses dans la présente invention. Un tel type de méthode comprend :

- la mise en contact d'une sonde nucléotidique de l'invention avec un échantillon biologique dans des conditions permettant la formation d'un complexe d'hybridation entre ladite sonde et la susdite séquence nucléotidique, éventuellement après une étape préalable d'amplification de la susdite séquence nucléotidique ;
- la détection du complexe d'hybridation éventuellement formé ;
- éventuellement le séquençage de la séquence nucléotidique formant le complexe d'hybridation avec la sonde de l'invention.

Les sondes d'ADNc de l'invention sont en outre avantageusement utilisables pour la détection d'anomalies chromosomiques.

Les séquences nucléotidiques selon l'invention sont également

utiles pour la réalisation et l'utilisation d'amorces oligonucléotidiques sens et/ou antisens pour des réactions de séquençage ou d'amplification spécifique selon la technique dite de PCR (réaction de polymérisation en chaîne) ou toute autre variante de celle-ci.

5 Les séquences nucléotidiques selon l'invention ont par ailleurs des utilisations dans le domaine thérapeutique, pour la réalisation de séquences antisens, capables de s'hybrider spécifiquement avec une séquence d'acide nucléique, y compris un ARN messager, utilisables en thérapie génique. L'invention a ainsi pour objet des séquences antisens
10 capables d'inhiber, au moins partiellement, la production d'un polypeptide selon l'invention, tel que défini précédemment.

Elles sont plus particulièrement utiles dans le traitement des désordres du système nerveux central et périphérique et de la vision, notamment dans le traitement des syndromes neurologiques
15 paranéoplasiques, ainsi que dans le traitement anticancéreux, notamment des tumeurs associées à des syndromes neurologiques paranéoplasiques.

Les séquences nucléotidiques selon l'invention peuvent par ailleurs être utilisées pour la production de protéines recombinantes ULIP selon l'invention.

20 Ces protéines peuvent être produites à partir des séquences nucléotidiques définies ci-dessus, selon des techniques de production de produits recombinants connues de l'homme du métier. Dans ce cas, la séquence nucléotidique utilisée est placée sous le contrôle de signaux permettant son expression dans un hôte cellulaire.

25 Un système efficace de production d'une protéine recombinante nécessite de disposer d'un vecteur, par exemple d'origine plasmidique ou virale, et d'une cellule hôte compatible.

L'hôte cellulaire peut être choisi parmi des systèmes procaryotes, comme les bactéries, ou eucaryotes, comme par exemple les levures, cellules d'insectes, CHO (cellules d'ovaires de hamster chinois) ou tout autre système avantageusement disponible. Un hôte cellulaire
5 préféré pour l'expression des protéines de l'invention est constitué par la bactérie *E. coli*.

Le vecteur doit comporter un promoteur, des signaux d'initiation et de terminaison de la traduction, ainsi que les régions appropriées de régulation de la transcription. Il doit pouvoir être maintenu
10 de façon stable dans la cellule et peut éventuellement posséder des signaux particuliers spécifiant la sécrétion de la protéine traduite.

Ces différents signaux de contrôle sont choisis en fonction de l'hôte cellulaire utilisé. A cet effet, les séquences nucléotidiques selon l'invention peuvent être insérées dans des vecteurs à réplication
15 autonome au sein de l'hôte choisi, ou des vecteurs intégratifs de l'hôte choisi. De tels vecteurs seront préparés selon les méthodes couramment utilisées par l'homme du métier, et les clones en résultant peuvent être introduits dans un hôte approprié par des méthodes standard, telles que par exemple l'électroporation.

20 L'invention vise en outre les cellules hôtes transfectées par ces vecteurs précédents. Ces cellules peuvent être obtenues par l'introduction dans des cellules hôtes d'une séquence nucléotidique insérée dans un vecteur tel que défini ci-dessus, puis la mise en culture desdites cellules dans des conditions permettant la réplication et/ou
25 l'expression de la séquence nucléotidique transfectée.

Ces cellules sont utilisables dans une méthode de production d'un polypeptide recombinant selon l'invention ou tout fragment ou dérivé biologiquement actif de celui-ci.

La méthode de production d'un polypeptide de l'invention
5 sous forme recombinante est elle-même comprise dans la présente invention, et se caractérise en ce que l'on cultive les cellules transfectées dans des conditions permettant l'expression d'un polypeptide recombinant selon l'invention ou de tout fragment ou dérivé biologiquement actif de celui-ci, et que l'on récupère ledit polypeptide recombinant.

10 Les procédés de purification utilisés sont connus de l'homme du métier. Le polypeptide recombinant peut être purifié à partir de lysats et extraits cellulaires, du surnageant du milieu de culture, par des méthodes utilisées séparément ou en combinaison, telles que le fractionnement, les méthodes de chromatographie, les techniques
15 d'immunoaffinité à l'aide d'anticorps mono ou polyclonaux spécifiques, etc.

Une variante consiste à produire un polypeptide recombinant fusionné à une protéine "porteuse" (protéine chimère). L'avantage de ce système est qu'il permet une stabilisation et une
20 diminution de la protéolyse du produit recombinant, une augmentation de la solubilité au cours de la renaturation *in vitro* et/ou une simplification de la purification lorsque le partenaire de fusion possède une affinité pour un ligand spécifique.

25 L'exploitation des protéines ULIP, et en particulier POP-66/ULIP-4, ainsi que des anticorps dirigés contre ces protéines, est prometteuse dans divers domaines.

Ainsi, la détection de l'auto-anticorps anti-CV2 par immunofluorescence sur cerveau animal fixé est utilisée actuellement comme test diagnostic.

La production de protéine recombinante POP-66/ULIP-4
5 selon l'invention permet la fabrication d'un test (de type Elisa ou Western Blot) rapide et fiable, pour détecter les anticorps anti-CV2.

De tels tests existent déjà pour les anticorps anti-Hu, anti-Yo et anti-Ri. Le test pour détecter les anti-CV2 dans le sérum des patients pourrait être prescrit en cas de suspicion de syndrome neurologique paranéoplasique et inclurait par conséquent les anticorps anti-CV2 au
10 même titre que les autres anticorps identifiés dans les SNP tels que précédemment cités.

L'invention vise donc également une méthode pour le
15 diagnostic des syndromes neurologiques paranéoplasiques et/ou pour le diagnostic précoce de la formation de tumeurs d'origine cancéreuse, caractérisée en ce que l'on met en évidence dans un échantillon de sang prélevé chez un individu des auto-anticorps dirigés contre une protéine POP-66/ULIP-4 par

20 - la mise en contact un échantillon de sang prélevé chez un individu avec un polypeptide purifié (POP-66), dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66/ULIP-4 éventuellement fixé sur un support dans des conditions permettant la formation de complexes immunologiques spécifiques entre ledit polypeptide et les
25 auto-anticorps éventuellement présent dans l'échantillon de sérum, et

- la détection des complexes immunologiques spécifiques éventuellement formés.

L'invention a également pour objet un kit pour le diagnostic des syndromes neurologiques paranéoplasiques et pour le diagnostic précoce de la formation des tumeurs à partir d'un prélèvement biologique comprenant :

- 5 - au moins un polypeptide purifié POP-66/ULIP-4, dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66/ULIP-4, éventuellement fixé sur un support,
- des moyens de révélation de la formation de complexes antigène/anticorps spécifiques entre un auto-anticorps anti-POP-66 et
10 ledit polypeptide purifié POP-66, dérivé ou fragment polypeptidique et/ou des moyens de quantification de ces complexes.

L'invention a également pour objet les anticorps mono- ou polyclonaux ou leurs fragments, anticorps chimériques ou
15 immunoconjugués, obtenus à partir d'un polypeptide purifié ULIP comprenant une séquence d'acides aminés choisie parmi SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 et n° 8, dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de ULIP et leur utilisation, pour la purification ou la détection d'une protéine ULIP dans un échantillon biologique.

20 Des anticorps polyclonaux peuvent être obtenus à partir du sérum d'un animal immunisé contre la protéine, produite par exemple par recombinaison génétique suivant la méthode décrite ci-dessus, selon les modes opératoires usuels.

 Les anticorps monoclonaux peuvent être obtenus selon la
25 méthode classique de culture d'hybridomes décrite par Köhler et Milstein.

 Les anticorps peuvent être des anticorps chimériques, des anticorps humanisés, des fragments Fab et F(ab')₂. Ils peuvent

également se présenter sous forme d'immunoconjugués ou d'anticorps marqués.

5 L'invention porte également sur l'utilisation d'anticorps dirigés contre une protéine de la famille ULIP pour la mise en évidence d'une protéine ULIP dans des néoplasmes, et des syndromes neurologiques paranéoplasiques à des fins de diagnostic.

De manière préférentielle, l'invention porte sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux obtenus à partir du sérum polyclonal anti-CV2
10 de patients par immortalisation de lymphocytes, selon les techniques usuelles connues de l'homme du métier.

Ainsi, les anticorps dirigés contre une protéine de la famille ULIP sont utiles pour détecter une expression anormale de protéine ULIP chez des patients présentant des syndromes neurologiques, chez qui
15 aucun cancer n'a été diagnostiqué par les méthodes classiques. Cette expression anormale de protéine ULIP pourra être corrélée à l'existence d'un cancer qui n'avait pas été repéré. Ainsi, les anticorps dirigés contre une protéine ULIP, notamment contre POP-66/ULIP-4, sont utiles pour le diagnostic précoce d'un cancer.

20

L'invention a également pour objet une méthode de détermination d'une variabilité allélique, d'une mutation, d'une délétion, d'une insertion, d'une perte d'hétérozygotie ou d'une anomalie génétique du gène POP-66/ULIP-4, situé sur le chromosome 10 dans la région 26q
25 pouvant être impliquées dans des pathologies, caractérisée en ce qu'elle met en oeuvre au moins une séquence nucléotidique SEQ ID n° 7. Parmi les méthodes de détermination d'une variabilité allélique, d'une mutation,

d'une délétion, d'une insertion, d'une perte d'hétérozygotie ou d'une anomalie génétique du gène POP-66/ULIP-4, on préfère une méthode comprenant au moins une étape d'amplification par PCR de la séquence nucléique de POP-66/ULIP-4 susceptible de présenter un polymorphisme, une mutation, une délétion ou une insertion, à l'aide de couple d'amorces de séquences nucléotidiques, une étape au cours de laquelle on procède au traitement des produits amplifiés à l'aide d'enzymes de restriction appropriées et une étape au cours de laquelle on procède à la détection ou au dosage d'au moins l'un des produits de la réaction enzymatique.

De manière avantageuse, on peut rechercher les mutations associées audit chromosome 10 en relation avec le cancer, notamment les tumeurs cancéreuses périphériques et les tumeurs cérébrales primitives d'origine gliale par exemple.

L'invention a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant au moins une protéine purifiée de la famille ULIP, fragment polypeptidique ou dérivé biologiquement actif de celle-ci, une séquence ou fragment de séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, une séquence anti-sens capable de s'hybrider spécifiquement avec une séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, ou un anticorps dirigé contre ladite protéine, associée à un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

L'invention comprend de manière préférentielle des compositions pharmaceutiques comprenant comme principe actif un polypeptide POP-66 purifié, dérivé ou fragment polypeptidique de POP-66, préférentiellement sous forme soluble, associé à un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

De telles compositions offrent une nouvelle approche pour traiter les désordres du système nerveux central et périphérique et de la vision, et notamment les syndromes neurologiques paranéoplasiques. Par ailleurs, elles sont utiles pour traiter les désordres neurologiques liés à
5 une perte neuronale et/ou une sous-expression des protéines ULIP dans le système nerveux.

Ainsi, POP-66/ULIP-4 révèle aussi un intérêt dans des pathologies neurodégénératives telles que les atrophies multisystémiques qui sont des affections similaires à celles des SNP et pour lesquelles une
10 anomalie d'une sous-population oligodendrocytaire a été détectée (Papp et al., 1992).

Les compositions selon l'invention sont par ailleurs utiles en thérapie anticancéreuse.

Les anticorps dirigés contre une ou plusieurs protéines ULIP
15 peuvent être associés à des agents antinéoplasiques, permettant ainsi le ciblage des médicaments vers les cellules tumorales.

Ils peuvent en outre être associés à un groupe chimique hydrophile choisi de manière à passer ou non la barrière hémato-encéphalique, selon le type de tumeur.

20 Les protéines ULIP et en particulier POP-66 ainsi que les séquences nucléotidiques codant pour lesdites protéines et les séquences ou oligonucléotides anti-sens, peuvent être utiles dans la thérapie de tout type de cancer dans lequel un gène codant pour une protéine ULIP est impliqué. Parmi des exemples de cancers, on peut citer
25 les tumeurs périphériques, telles que le cancer du poumon à petites cellules, le thymome, le cancer du sein et de l'ovaire, ainsi que les tumeurs cérébrales, de préférence les tumeurs cérébrales primitives

d'origine gliale. L'expression de POP-66 dans les cellules non prolifératives du cerveau normal, son absence dans des tissus normaux tels que poumon ou thymus par exemple, sa réexpression différentielle lors de la tumorigénèse de ces tissus et la modulation de son expression
5 dans une lignée tumorale au cours de la différenciation suggèrent à cet égard que POP-66 pourrait être un gène suppresseur de tumeur.

Préférentiellement, les compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être administrées par voie systémique, de préférence par voie intraveineuse, par voie intramusculaire, intradermique ou par
10 voie orale.

Leurs modes d'administration, posologies et formes galéniques optimaux peuvent être déterminés selon les critères généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement thérapeutique adapté à un patient comme par exemple l'âge ou le poids
15 corporel du patient, la gravité de son état général, la tolérance au traitement et les effets secondaires constatés, etc.

L'invention comprend enfin l'utilisation d'une protéine purifiée de la famille ULIP, fragment polypeptidique ou dérivé
20 biologiquement actif de celle-ci, une séquence ou fragment de séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, une séquence anti-sens capable de s'hybrider spécifiquement avec une séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, ou un anticorps dirigé contre ladite protéine, associée à un véhicule pharmaceutiquement acceptable, pour la
25 fabrication d'un médicament destiné à traiter les maladies neurodégénératives et les néoplasmes.

Les exemples et les figures dont les légendes sont présentées ci-après sont donnés à titre illustratif.

5

LEGENDE DES FIGURES

- La figure 1 représente un profil d'électrophorèse à deux dimensions obtenu à partir d'extraits protéiques de cerveaux de rats nouveaux-nés enrichis en POP-66.

10

A : coloration à l'argent de l'ensemble des protéines.

B : immunoempreinte avec le sérum anti-CV2 de patients.

Les flèches indiquent les taches correspondant à POP-66, révélées avec les anticorps anti-CV2.

15

- La figure 2 représente un profil d'électrophorèse à deux dimensions obtenue à partir d'extraits protéiques de cerveaux de rats nouveaux-nés.

Immunoempreinte avec A- l'anticorps antipeptide 3 et B- l'anticorps anti-CV2.

20

- La figure 3 représente une électrophorèse à une dimension obtenue à partir d'extraits protéiques de cerveaux de rats nouveaux-nés.

Immunoempreinte avec a : sérum préimmun pour peptide 3

Immunoempreinte avec b : sérum anti-peptide 3

Immunoempreinte avec c : sérum anti-peptide 4

Immunoempreinte avec d : sérum préimmun pour peptide 4.

25

- La figure 4 représente un marquage immunohistochimique de coupes de cerveaux de rats adultes avec

A : sérum anti-CV2 de patient atteint de SNP

B : sérum de lapin avec des anticorps anti-peptide 3

C : sérum de lapin avec des anticorps anti-peptide 4.

- La figure 5 représente un marquage histologique de coupes de cervelet de raton à 8 jours post-natal.

5 A : coloration au bleu de toluidine ; ge = couche granulaire externe ; m = couche moléculaire (x400).

 B : Immunomarquage après incorporation de BrdU (bromodéoxyuridine). Les cellules ayant incorporé le BrdU sont pratiquement toutes situées dans la zone la plus externe de la couche granulaire externe (ge). Quelques cellules positives sont situées dans la
10 couche granulaire interne (x400).

 C : Immunoperoxydase indirecte avec un sérum de patient contenant un anticorps anti-CV2 (x400). L'immunoréactivité est concentrée dans la partie interne de la couche granulaire externe (future
15 couche moléculaire (m)). Quelques cellules sont immunoréactives dans la couche granulaire interne. Les cellules de Purkinje (p) sont négatives ainsi que les cellules de la partie externe de la couche granulaire externe (ge).

 D : Immunoperoxydase indirecte avec un sérum de patient
20 contenant un anticorps anti-CV2 (x1000). L'immunomarquage est surtout concentré dans la partie interne de la couche granulaire externe (future couche moléculaire (m)). On note une cellule réactive dans la couche granulaire interne (gi) (flèche).

- La figure 6 représente un marquage immunohistochimique
25 de coupes d'hippocampe humain post-mortem (coloration HPS).

 A : cerveau de patient témoin,

B : cerveau de patient présentant une encéphalite limbique, et anticorps circulant anti-CV2. On peut noter la disparition des cellules granulaires.

- La figure 7 représente un profil d'électrophorèse à deux dimensions avec la protéine ULIP-2 (A) contrôle et la protéine ULIP-4 (B).

La figure 7C représente le modèle de profil de migration des protéines ULIP-1, 2, 3 et 4 comme référence.

Les protéines sont révélées :

a) par autoradiographie pour localiser les protéines traduites *in vitro* (traduction) ;

b) par immunoempreinte avec le sérum anti-CV2.

- La figure 8 représente un profil de migration de l'ARNm de C-22/ULIP-3 (8A) et TOAD-64/ULIP-2 (8B) amplifié par RT-PCR exprimé dans différents types cellulaires :

15 pistes 1-3 : tumeur à petites cellules du poumon
 piste 2 : tumeur à petites cellules du poumon avec du sérum anti-CV2

piste 4 : cDNA contrôle.

piste 5 : médulloblastome traité par infection HTLV1

20 pistes 6-7 : médulloblastome

piste 8 : lignée C6 de cellules gliales chez la souris

piste 9 : contrôle

piste 10 : néant

piste 11 : échelle kb.

25 Les flèches noires correspondent à POP-66, les flèches blanches correspondent au standard de poids moléculaire.

- La figure 9 représente la séquence nucléotidique d'ULIP-2 chez la souris (SEQ ID N° 1), ainsi que la séquence en acides aminés déduite (SEQ ID N° 2).

5 - La figure 10 représente la séquence nucléotidique d'ULIP-3 chez la souris (SEQ ID N° 3), ainsi que la séquence en acides aminés déduite (SEQ ID N° 4).

- La figure 11 représente la séquence nucléotidique d'ULIP-4 chez la souris (SEQ ID N° 5), ainsi que la séquence en acides aminés déduite (SEQ ID N° 6).

10 - La figure 12 représente la séquence nucléotidique d'ULIP-4 chez l'homme (SEQ ID N° 7), ainsi que la séquence en acides aminés déduite (SEQ ID N° 8).

Un codon stop erroné dans la séquence ULIP-4 homme (astérisque) provient d'une faute de la transcriptase inverse dans la
15 production de la banque. En comparant avec ULIP-4 de rat et de souris, il est presque certain que la séquence TAG codant pour un stop soit en fait un codon AAG, codant pour une lysine comme chez le rat et la souris. De plus, la région autour de cet acide aminé est entièrement conservée dans les trois espèces.

20 La séquence d'acides aminés a été complétée sur la SEQ ID n° 8 par 15 acides aminés en C-terminal (n° 554 à n° 568). Cette région C-terminale manquante sur la figure 12 est très bien conservée entre ULIP-4 rat et souris ainsi qu'entre les différentes ULIP.

EXEMPLE 1

Purification de POP-66 et séquençage :

5 La purification de POP-66 est réalisée selon le matériel et les méthodes décrits dans l'article de Honnorat et al., 1996, incorporé par référence, à partir de sérum de patients atteints de SNP.

 Pour identifier la protéine POP-66, on a choisi une stratégie de purification qui permette d'obtenir un séquençage partiel. Le criblage
10 d'une banque d'expression d'ADNc de cerveau ou la purification de la protéine par immunoaffinité étaient exclus en raison des quantités limitées de sérums liées au décès des patients. Une méthode de purification biochimique a pu être développée à partir de cerveaux de rats nouveaux-nés grâce aux sérums humains anti-CV2 qui ont permis de suivre chaque
15 étape de purification.

 Les tissus, conservés à -70° C avant utilisation, ont été traités par une solution contenant DTT (dithiothreitol) (Sigma) 0,2 M, Ampholine 3-10 (Pharmacia) 2 %, Triton X-100 (Merck) 2 % et placés à 2-4° C. Immédiatement avant l'utilisation, de l'urée solide (Pharmacia) a
20 été ajoutée pour obtenir une solution 8M.

 La protéine POP-66 est soluble, au moins en partie, et précipite entièrement à une concentration de 40 % de sulfate d'ammonium.

 Une centrifugation à 100 000 (fois) g et une précipitation au
25 sulfate d'ammonium (éliminant les protéines précipitant en-dessous de 20 % et au-dessus de 40 % de sulfate d'ammonium) permettent d'obtenir des extraits protéiques enrichis en POP-66. Les protéines de cet extrait sont

alors séparées, après dialyse, par isofocalisation sur gel d'agarose (Peltre et al., 1982).

Après transfert sur membrane, les anticorps anti-CV2 reconnaissent plusieurs bandes de points isoélectriques compris entre
5 5,85 et 6,55. L'ensemble de ces bandes correspond à la protéine POP-66 reconnue par les anticorps anti-CV2. Ce spectre suggère la possibilité de modifications transcriptionnelles (phosphorylations et/ou glycosylations) de la protéine.

A partir du gel d'agarose, la zone des protéines comprise
10 entre 5,85 et 6,55, de pI, est utilisée pour une nouvelle migration électrophorétique en milieu dénaturant sur gel de polyacrylamide préalablement équilibré avec une solution d'équilibration (0,05 mol/l Tris/HCl, pH 6,8, urée 6M, glycérol 30 %, SDS 1 % poids/volume pendant 2 x 10 minutes) à laquelle on ajoute du DTT (0,25 % poids /volume) et du
15 bleu de bromophénol.

Deux modes de détection sont utilisés :

- *la coloration à l'argent*. Immédiatement après la fin de la migration, le gel est immergé dans une solution fixatrice (40 % d'éthanol, 10 % d'acide acétique) pendant 30 minutes ; il est ensuite placé dans une
20 solution d'incubation (30 % d'éthanol, 7 % poids/volume d'acétate de sodium, 0,1 % de glutaraldéhyde, 0,2 % poids/volume de thiosulfate de sodium) pendant 30 minutes ou une nuit. Après lavage, le gel est placé dans une solution d'argent (0,1 % poids/volume de nitrate d'argent + formaldéhyde) et développé (2,5 % poids/volume de carbonate de sodium
25 + formaldéhyde). La réaction est arrêtée avec l'EDTA- Na_2 (1,5 % poids/volume). Les gels sont conservés dans une solution de glycérol.

- transfert sur membrane de PVDF (Immobilon-P®, Millipore). Les protéines séparées sont transférées sur une membrane de PVDF en utilisant un tampon CAPS (Sigma) 100 mM pH 11. Les transferts sont incubés pendant une heure dans du tampon TBS (Tris buffer saline) avec 5 % de caséine (lait) et 18 heures dans du tampon TBS (+ 1 % de caséine) contenant de l'anticorps (sérum anti-CV2 1/500). Après lavage avec TBS-caséine (15 minutes), la révélation est effectuée en incubant les transferts pendant 1 heure et demie avec les anticorps anti-IgG biotinylés (1/1000) et pendant 1 heure et demie avec le complexe streptavidine-peroxydase (1/2000). Les transferts sont ensuite révélés avec du DAB (diaminobenzidine 0,06 % poids /volume dans Tris 0,05 M) et avec H₂O₂ (0,02 µg/ml).

Une seule bande correspondant à une protéine de 66 kDa est visible. Celle-ci est spécifiquement marquée par les anticorps anti-CV2 (figure 1). On a effectué alors un séquençage N-terminal de cette protéine, après digestion trypsique.

Sept peptides, présentant les séquences suivantes, ont été obtenus :

- 1 - X-Met-Tyr-Asp-Gly-Pro
- 20 2 - X-Phe-Asn-Leu-Tyr-Pro-Arg
- 3 - X-Val-Leu-Glu-Asp-Gly-Thr-Leu-His-Val-Thr-Glu-Gly
- 4- X-Ile-Gly-X-X-Ala-Gln-Val-(His ?)-Ala-Glu-Asn-Gly-X-Ile-Ile-Ala-Glu-Glu-Gln
- 5 - X-X-Glu-Asn-Gln-Phe-Val-Ala-Val-Thr
- 25 6 - X-Val-Asn-Asp-(Asp ?)-Gln-Ser-Phe-Tyr-Ala-Asp-Ile-Tyr-Met-Glu-(Asp ?)-(Gly ?)-Leu-Ile
- 7 - X-X-X-Phe-Val-Thr-X-Pro-X-Leu-X-Pro

X : correspond à un acide aminé non déterminé,

(?) : correspond à un acide aminé probable mais non certain.

D'après l'analyse des banques de données disponibles en
5 1994, aucune protéine connue ne correspondait à ces séquences.

EXEMPLE 2

10 **Clonage de l'ADNc de POP-66 ou des protéines
apparentées :**

Le clonage de l'ADNc de la protéine POP-66 ou des
protéines apparentées a été entrepris en utilisant des sondes
15 oligonucléotidiques dégénérées obtenues à partir de fragments de deux
peptides :

Ile-Ile-Ala-Glu-Glu-Gln

Tyr-Ala-Asp-Ile-Tyr-Met-Glu-(Asp ?)

20

Quatre jeux d'amorces oligonucléotidiques dégénérées
(sens/anti-sens) sont donc déterminés

(AT(C/T)ATTGC(T/A)GA(A/G)CA ; TG(C/T)TC(T/C)AC(T/A)GCAT(A/G)AT ;

TATGC(A/T)GA(C/T)AT(C/T)ATGGA ; TCCAT(G/A)TA(G/A)CT(T/A)GCAT

25 A) et utilisés pour une amplification PCR.

La matrice est préparée sous forme d'ADNc double-brin
(Promega kit) à partir d'ARNpoly(A*) extrait du cerveau de rats âgés de 10

jours (Zivic-Miller, USA) en utilisant le kit d'isolement de l'ARNm Fast Track (Invitrogen).

Les conditions d'amplification par PCR sont les suivantes :
35 cycles à 94°C, 1 minute pour la dénaturation, 55°C, 1 minute pour
5 l'hybridation et 72°C, deux minutes pour l'extension.

Les produits de PCR sont analysés en électrophorèse sur gel d'agarose à 1 %, électroélués, clonés dans un vecteur de clonage TA (Invitrogen) et séquencés en utilisant les sites des amorces des promoteurs T7 et SP6.

10 La séquence d'acides aminés déduite du clone MFB-17 concorde avec les séquences des deux peptides originaux de POP-66 déterminés par l'analyse de la séquence d'acides aminés.

Une analyse comparée des séquences d'acides nucléiques utilisant les bases de données Genbank et EMBL révèle que MFB-17 est
15 un ADNc partiel avec une séquence nucléotidique identique à celle d'un segment de TOAD-64, une protéine neuronale de rat (Minturn et al., 1995).

La séquence d'acides aminés déduite à l'ADNc de TOAD-64 concorde avec les séquences des sept peptides déterminés par l'analyse
20 des séquence partielles de la protéine reconnue par les anticorps anti-CV2 après purification par électrophorèse.

Le poids moléculaire, le point isoélectrique, le profil immunohistochimique et la régulation de TOAD-64 sont similaires à ceux de l'antigène POP-66.

25 Le clone MFB-17 ne présentant pas la région codante complète, il a été nécessaire de produire une protéine recombinante intacte pour poursuivre les recherches concernant la protéine CV2.

Pour obtenir une protéine complète TOAD-64, on a amplifié la matrice ADNc-ds de cerveaux de rats avec deux jeux d'amorces situées aux extrémités 5' et 3' des régions codantes

(sens : GGCATATGTCTTATCAGGGGAAG ;

5 anti-sens GCGAATTCTTAGCCCAGGCTGATG).

Cette approche a permis de produire deux clones différents, l'un correspondant à la séquence TOAD-64 et l'autre à un clone désigné par C-22.

10

EXEMPLE 3

Comparaison de la séquence d'acides aminés déduite de C-22 avec les protéines ULIP :

15

La séquence d'acides aminés déduite à partir du cadre de lecture ouverte, indique que ce clone C-22 appartient à la super-famille de gènes ULIP représentée par plusieurs gènes des séquences EST.

20 La séquence d'acides aminés déduite de C-22 présente une homologie de 30 % avec la séquence d'acides aminés de la protéine unc-33 de *Caenorhabditis elegans*.

Récemment, quatre gènes différents homologues à la protéine unc-33 ont été décrits chez les mammifères et le poulet.

25

Une analyse des séquences par les bases de données Genbank et banques de protéines a permis de proposer une

classification des protéines unc-33 like (ULIP) en quatre différents sous-groupes (Byk et al. 1996).

5 Pourtant, comme les fonctions réelles de ces protéines ne sont pas clairement connues, la classification proposée est basée simplement sur le pourcentage d'identité d'acides aminés. ULIP-1 est représentée par une phospho-protéine « unc-33 like » de souris qui présente une homologie de 76 % avec TOAD-64, Crmp-62, et Munc, une séquence de souris récemment disponible sur Genbank.

10 ULIP-2 est composée de TOAD-64, Crmp-62 et Munc qui présentent entre eux une identité de 97 % d'acides aminés.

15 Les séquences partielles humaines EST, c'est-à-dire hcrmp-1, qui présentent une identité de 75 % avec ULIP-1 ou ULIP-2 ont été trouvées. Elles appartiennent à un troisième groupe appelé ULIP-3. Le dernier groupe identifié appelé ULIP-4, comprend r-CRMP-3 chez le rat et les formes ULIP-4 chez la souris et POP-66/ULIP-4 chez l'homme.

20 La comparaison de la séquence d'acides aminés des trois gènes ULIP, à savoir TOAD-64 chez le rat, Crmp-62 chez le poulet, et ULIP-1 chez la souris, avec la séquence d'acides aminés déduite du cadre de lecture ouvert du présent clone C-22, en utilisant le logiciel d'alignement Clustal V, révèle que C-22 présente une identité de 74% avec ULIP-1, 77 % avec Crmp-62 et 76 % avec TOAD-64.

25 La séquence nucléotidique C-22 a une identité de 97 % avec la séquence partielle EST, hCrmp-1, et définit ainsi le troisième membre du groupe ULIP-3. Les gènes TOAD-64, Crmp-62 et C-22 codent chacun pour une protéine de 572 acides aminés de longueur,

tandis que la séquence d'acides aminés déduite à partir d'ULIP-1 donne une protéine de 570 acides aminés.

5 L'analyse de la séquence d'acides aminés de C-22 ne montre aucune séquence de signal ou de domaine transmembranaire suggérant que le ou les produits du gène C-22 pourraient être localisés dans le cytoplasme des cellules.

Plusieurs sites consensus de phosphorylation par la protéine kinase C (S/T X R/K) apparaissent le long du produit du gène C-22. Ces observations suggèrent que C-22 est une phospho- protéine et
10 que de légères différences dans la phosphorylation pourraient dicter l'activité ou le rôle des différents membres de cette famille de protéines tout au long du cycle cellulaire.

Tableau I : Récapitulation des protéines présentant une homologie avec les ULIP.

Famille		Espèces	N° EMBL
Unc-33 nematode		Nematode	Z14146
Dihydropyrimidinase	Hu DHPase	humain	D78011
	Ra DHPase	rat	D63704
groupe ULIP-1	Ulip	souris	X87817
	Hu DRP3	humain	D78014
	r-CRMP-1	rat	U52102
	Hu-Ulip	humain	Y07818
groupe ULIP-2	ULIP-2	souris	SEQ ID n° 2
	Toad-64	rat	Z46882
	CRMP-62	poulet	U17277
	Munc	souris	X87242
	hCRMP-2	humain	U17279
	Hu DRP-2	humain	D78013
	r-CRMP-4	rat	U52104
groupe ULIP-3	ULIP-3	souris	SEQ ID n° 4
	hCRMP-1	humain	U17278
	rCRMP-1	rat	U52102
	C-22	rat	U52095
	Hu DRP-1	humain	D78012
groupe ULIP-4	ULIP-4	souris	SEQ ID n° 6
	POP-66/ULIP-4	homme	SEQ ID n° 8
	r-CRMP-3	rat	U52103

EXEMPLE 4

Régulation de l'expression du gène C-22 :

5 L'évaluation des altérations dans l'expression du gène C-22 pourrait avoir une importance considérable pour la connaissance des aspects fonctionnels de la protéine C-22.

Par conséquent, la Demanderesse a étudié la possible
régulation de l'expression du gène C-22 au cours du développement.
10 L'ARN total est extrait et séparé par l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % et transféré sur membrane Nytran (Duchemin et al. 1987). Les transferts sont hybridés avec une séquence codante C-22 marquée au ³²-P, un tampon phosphate 0,5 mM et 5 % de SDS à 65°C pendant 16 heures.

15 A la fin de l'hybridation, les transferts sont lavés successivement trois fois avec 2xSSC, 0,1 % SDS à température ambiante, puis 1xSSC, 0,1 % SDS à 65°C pendant 60 minutes, et exposés aux rayons X.

Dans les conditions utilisées, on a détecté une seule bande
20 à 3,8 kb représentant l'ARNm C-22 qui est aussi le plus petit transcrit de la famille de gènes unc-33 des vertébrés. La taille du transcrit reste la même durant les périodes pré et post-natales.

La cinétique du gène C-22 dans le cerveau de rats au cours du développement montre que le messager est détectable au cours de la
25 période embryonnaire au jour E17. La quantité de transcrits C-22 augmente jusqu'au jour 7 post-natal puis décroît rapidement à partir de la

seconde semaine après la naissance jusqu'à un niveau pratiquement indétectable chez l'adulte.

Aux environs de la naissance, un signal de régulation encore inconnu est probablement reçu, ce qui augmente l'expression du gène C-22, ce signal étant lié temporairement à la différenciation neuronale et au développement axonal.

L'ARNm de C-22 n'a pas pu être détecté par analyse Northern Blot dans plusieurs régions du cerveau telles que le cortex frontal, le cerveau moyen et le thalamus chez l'adulte et le rat âgé de plus de deux ans.

De plus, on n'a pas pu détecter l'ARNm de C-22 dans des tissus non neuronaux, tels que le coeur, le poumon, le foie, le rein chez des rats d'une semaine et des rats adultes.

Les données sur le profil de l'expression l'ARNm de C-22 suggèrent un rôle prépondérant de la protéine C-22 dans le développement du cerveau.

EXEMPLE 5

20

Immunoempreinte de POP-66 :

Des anticorps contre quatre des peptides séquencés (cf. exemple 1) ont été produits. Deux des sérums se sont avérés particulièrement intéressants.

L'un contient des anticorps (Ac anti-pep3) qui reconnaissent plusieurs membres de la famille ULIP en électrophorèse à deux

dimensions d'extraits protéiques de cerveau de rat nouveau né (figure 2) et sur électrophorèse à une dimension (figure 3). Un autre anticorps (Ac anti-pep4) reconnaît en Western Blot une seule bande de 66 kDa susceptible de correspondre à un seul membre de la famille (figure 3).

5

EXEMPLE 6

Immunohistochimie :

10

Les préparations de tissus pour l'immunohistochimie sont obtenues à partir de cerveaux de rats nouveaux-nés et de cerveaux humains *post-mortem*, fixés à 4° C dans du paraformaldéhyde à 4 % et 0,2 % d'acide picrique dilués dans du tampon phosphate (0,1 M, pH =7,4), puis cryoprotégés.

15

L'immunocytochimie peut être réalisée par la technique d'immunofluorescence indirecte. Des coupes de 12 µm d'épaisseur sont réalisées au cryostat puis montées sur lame recouverte de gélatine, traitées pendant 2 heures dans du tampon PBS et 1 % de sérumalbumine bovine (BSA) avec 0,1 % de Triton X100 et incubées 12 h avec le sérum de patients anti-CV2 dans du PBS-1% BSA à température ambiante (dilution du sérum 1/100). Après plusieurs lavages avec PBS-1 % BSA, les coupes sont incubées pendant 2 h avec un anti-sérum anti-humain de lapin conjugué à la fluorescéine diluée à 1 % (Dakopatts) dans du PBS-1 % BSA. Après lavage dans le PBS les lames sont examinées au microscope. Les coupes contrôle sont incubées avec soit l'antisérum IgG anti-humain conjugué à la fluorescéine seule, soit le PBS-1 % BSA seul,

25

soit le sérum de patient seul, soit enfin le sérum contrôle (patients non atteint de SNP) et anticorps conjugué à la fluorescéine à la même dilution.

Pour confirmer l'immunofluorescence on peut utiliser le marquage indirect par immunoperoxydase. Les coupes de tissus congelés
5 fixés au paraformaldéhyde sont incubées avec 0,3 % d'H₂O₂ (pour détruire l'activité peroxydase intrinsèque) et 10 % de sérum normal de lapin (pour éviter la liaison non spécifique des IgG de lapin) ou 1 % BSA. Après incubation 12 h avec des sérums de patients dilués à 1/1000 et
10 lavage, les coupes sont incubées 2 h avec de l'antisérum IgG anti-humain de lapin biotinylé dilué à 1/1000 dans PBS-1% BSA. Les IgG humains liés sont visualisés par incubation avec un complexe avidine-biotine-peroxydase (Vectastain ABC complex, Vector) et développés avec 0,05 % DAB (Sigma). Les coupes contrôle sont obtenues avec des sérums de 15
15 patients sans SNP selon le même protocole.

A - Localisation des protéines de la famille ULIP à l'aide d'anticorps antipeptides :

Un marquage immunohistochimique a été réalisé sur coupe
20 de cerveaux de rats nouveaux-nés et adultes. L'anticorps antipeptide-3 reconnaît un (des) antigènes présent(s) dans plusieurs types cellulaires sur coupe de cerveaux de rats nouveau-nés et adultes.(fig. 4). Comme le sérum anti-CV2 de patient, les anticorps anti-peptide-4 ne permettent la mise en évidence d'aucun antigène sur coupe de cerveau de rat nouveau
25 né alors qu'ils marquent spécifiquement une sous-population d'oligodendrocytes dans le cerveau de rat adulte (fig. 4).

B - Expression de POP-66 au cours du développement normal du cerveau :

La figure 5 montre que les cellules nerveuses prolifératives
5 des zones progénitrices du système nerveux mises en évidence par
l'accumulation de bromodéoxyuridine (BrdU) n'expriment pas POP-66
alors que les cellules non prolifératives qui correspondent aux cellules
nerveuses en différenciation ou en migration l'expriment.

10

EXEMPLE 7

Rôle de POP-66 dans la survie neuronale :

15

La figure 6 permet de comparer des coupes de cerveaux
humains de patients sains et de patients atteints de SNP. Chez les
patients atteints d'un SNP et présentant des anticorps circulant anti-CV2,
on observe une disparition des neurones du gyrus dentatus et des
20 neurones pyramidaux (bande de cellules centrale), ainsi qu'une réaction
astrocytaire intense.

25

EXEMPLE 8

Caractérisation de la protéine POP-66 - Identification avec ULIP-4 :

5

Matériels et méthodes

a) Purification partielle d'ULIP-1

ULIP-1 partiellement purifiée a été obtenue à partir de
10 cerveaux de souris nouveaux-nés par trois étapes de purification. Ces
cerveaux ont été homogénéisés dans 4 volumes de tampon
d'homogénéisation (25 mM phosphate de sodium, pH 7,8, 1 mM EGTA,
10 µg/ml de leupeptine, 25 µg/ml d'aprotinine, et 10 µg/ml de pepstaine.
Les homogénats ont été centrifugés pendant 10 minutes à 400 x g. Les
15 culots ont été resuspendus dans 2 volumes de tampon
d'homogénéisation, homogénéisés, et de nouveau centrifugés. Les
surnageants issus des deux centrifugations ont été rassemblés, soniqués
et centrifugés pendant 1 heure à 100.000 x g. Le surnageant (S2) a été
chargé sur une colonne CL-6B de DEAE-Sepharose (1,75 cm² x 26 cm)
20 équilibré avec 100 ml de tampon A (25 mM de phosphate de sodium, pH
7,8, 1 mM d'EGTA) à une flux de 30 ml par heure. Les protéines ont été
éluées dans 300 ml d'un gradient linéaire de chlorure de sodium 0-250
mM dans du tampon A et des échantillons de 5 ml ont été recueillis. Les
fractions contenant ULIP ont été collectées et du sulfate d'ammonium
25 solide a été ajouté jusqu'à 20 % de saturation. Ce « pool » a été chargé
sur une colonne CL-4B de phényl-Sepharose (1,75 cm² x 22 cm) qui a été
préalablement équilibré avec 100 ml de tampon B (10 mM de phosphate

de sodium, pH 7,8, 1 mM d'EGTA) contenant 20 % de sulfate d'ammonium saturé. Les protéines ont été éluées dans un gradient linéaire décroissant de 20 à 0 % de sulfate d'ammonium saturé dans du tampon B. Les fractions contenant ULIP ont été recueillies, dialysées
5 deux fois contre 20 volumes de tampon A. Les protéines ont été concentrées sur une petite (10 ml) colonne C1-6B de DEAE-Sepharose et éluées avec 400 mM de chlorure de sodium dans du tampon A. L'éluat a été dessalé sur une colonne Sephadex G-25 (NAP-10) et concentré dans un volume final de 0,5 ml par évaporation. Dans la dernière étape de
10 purification, la fraction concentrée a été chromatographiée en trois étapes successives, sur deux colonnes de FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) Superose 12 montées en série, dans du tampon C (50 mM de phosphate de sodium, pH 7,2, 150 mM de chlorure de sodium) à un débit de 0,3 ml/minute. Les fractions (0,6 ml) ont été recueillies et les
15 fractions enrichies en ULIP ont été analysées. La présence d'ULIP dans les étapes successives de purification a été testée par un Western Blot à une dimension en utilisant un anticorps anti-stathmine capable de réactivité croisée. Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford.

20

b) Migration sur gel d'électrophorèse :

Une électrophorèse à une dimension a été effectuée sur des gels de polyacrylamide 13 % selon la méthode de Laemmli. Les électrophorèses PAGE à deux dimensions ont été effectuées tel que
25 décrit précédemment. Les gels d'isoélectrofocalisation contenaient 2 % d'ampholines total, pH 6-8 et 3-10 selon un rapport de 4 :1. La seconde dimension avait été menée sur des gels d'acrylamide à 10 %. Les

protéines ont été soit soumises à une immuno-empreinte soit colorées par l'argent.

c) Analyse Western Blot :

5 Les protéines ont été transférées à partir des gels sur de la nitrocellulose dans du tampon contenant Tris 48 mM, glycine 39 mM et 5% de méthanol. La membrane a été saturée avec de la caséine (2,5 %) dans la solution d'immuno-empreinte (12 mM de Tris-HCl, pH 7,4, 160 mM de Na Cl, 0,1 % de Triton X-100) et testée avec un antisérum dirigé
10 contre le peptide I de la stathmine de rat (dilution 1/10.000) ou un antisérum dirigé contre la protéine ULIP recombinante (dilution 1/20.000) dilué dans une solution d'immuno-empreinte contenant 1 % de caséine. Les anticorps liés ont été détectés soit avec une protéine A marquée à 125 I et autoradiographiés soit avec des anticorps anti-lapin liés à la
15 peroxydase en utilisant le kit ECL (Amersham).

d) Analyse de la séquence protéique :

Les fractions enrichies en ULIP ont été séparées sur les gels de polyacrylamide à deux dimensions. Les gels sont fixés pendant 30
20 minutes dans 25 % d'éthanol et 10 % d'acide acétique et colorés pendant 3 minutes dans 0,1 % de noir amido dans 1 % d'acide acétique et 40 % de méthanol. Les gels ont été décolorés dans 1 % d'acide acétique et les taches correspondant à la forme principale de ULIP ont été découpées dans ces trois gels, recueillies et digérées avec 2 mg/ml d'endoprotéase
25 Lys C. Les peptides élués du gel ont été ensuite séparés par HPLC sur colonne DEAE-C18 avec un gradient de 0-55 % d'acétonitrile dans 0,1 %

d'acide trifluoroacétique. Les peptides ont ensuite été séquencés selon la dégradation automatique d'Edman.

e) Expression *in vitro* chez un mammifère

5 1 µg du plasmide Bluescript contenant l'ADNc entier codant pour ULIP-1, ULIP-2, ULIP-3 ou ULIP-4 a été utilisé pour réaliser la transcription et la traduction *in vitro* avec le système « Reticulocyte lysate » (Promega) selon le protocole décrit par le fabricant. 5 µg du mélange de 25 µl total de transcription/traduction ont été analysés sur gel
10 d'électrophorèse à deux dimensions.

Résultats

Ni la protéine recombinante ULIP-1, ni les protéines
15 recombinantes TOAD-64 (ULIP-2) et C-22 (ULIP-3) ne sont reconnues par les sérums anti-CV2. De plus, le profil de distribution des taches correspondant à POP-66 reconnues par les anticorps anti-CV2 en électrophorèse à deux dimensions ne correspond pas aux taches reconnues par les anticorps anti-ULIP-1. Or, POP-66 est un membre de la
20 famille ULIP puisque les trois taches POP-66 sont reconnues par l'Ac anti-pep3. POP-66 correspond donc à un membre de la famille de pHi plus basique.

Après traduction *in vitro* des quatre protéines (ULIP-1, 2, 3, 4), on a montré que ULIP-4 a le même profil électrophorétique 2D que
25 POP-66 et est reconnue par les anticorps anti-CV2 (figure 7).

Pour cela, la protéine ULIP-4 et, comme contrôle, la protéine ULIP-2 ont été traduites *in vitro* en présence de méthionine ³⁵S à partir de

clones d'ADNc codants pour les protéines entières. Les protéines ont été séparées par électrophorèse à deux dimensions (en présence d'un extrait de cerveau fournissant les repères essentiels), transférées sur nitrocellulose et révélées :

5 - par autoradiographie pour localiser les protéines traduites *in vitro* (traduction) ;

 - par immunoempreinte avec le sérum CV2.

 La figure 7 montre que les trois taches de la traduction *in vitro* d'ULIP-4 correspondent aux taches reconnues par CV2. Ces taches
10 ne sont pas reconnues dans la traduction d'ULIP-2.

 Le sérum CV2 reconnaît donc spécifiquement ULIP-4.

 Ceci a permis d'identifier POP-66 comme ULIP-4.

15 EXEMPLE 9

Localisation chromosomique de la protéine POP-66/ULIP-4 :

 L'ADNc d'ULIP-4 humain étant cloné, il est alors possible de
20 déterminer la localisation chromosomique du gène POP-66/ULIP-4 par cartographie génique par hybridation *in situ* isotopique (Levy et Mattei et al., 1995) .

 L'hybridation *in situ* est menée sur des préparations de chromosomes obtenues à partir de lymphocytes humains stimulés par la
25 phytohémagglutinine mis en culture pendant 72 heures. De la 5-bromodéoxyuridine a été ajoutée pendant les 7 dernières heures de la culture (60 µg/ml de milieu), pour assurer une image de bandes

chromosomiques post-hybridation de bonne qualité. Le clone contenant un insert de 1300 paires de bases codant pour ULIP-4 dans le vecteur Bluescript est marqué au tritium par translation de coupure (« nick translation ») avec une activité spécifique de 1×10^8 dpm. μg^{-1} . La sonde radiomarkée a été hybridée au stade métaphase à une concentration finale de 200 ng par ml de solution d'hybridation. Après recouvrement par une émulsion Kodak NTB₂ les lames ont été exposées pendant 20 jours à +4°C puis développées. Pour éviter le décalage des grains d'argent pendant le processus, les étalements de chromosomes ont été préalablement marqués avec une solution tampon de Giemsa et les métaphases ont été photographiées. La révélation des bandes a été effectuée par la méthode « fluorochrome-photolyse Giemsa » (FPG) et les métaphases ont été rephotographiées avant analyse. Sur les 100 cellules en métaphase examinées après hybridation *in situ*, on a dénombré 246 grains d'argent associés aux chromosomes et 54 parmi ceux-ci (21,9 %) étaient localisés sur le chromosome 10. La distribution des grains sur ce chromosome n'était pas aléatoire : 39 sur 54 (72,2 % de ceux-ci) étaient localisés sur la région q25.2-q26 du bras long du chromosome 10.

Le gène POP-66/ULIP-4 se trouve donc situé sur le chromosome 10 dans la région q25.2-q26. Cette région a été décrite comme étant délétée dans certains cas de glioblastomes. Cette localisation chromosomique confirme l'intérêt d'étudier POP-66/ULIP-4 en relation avec la pathologie tumorale.

EXEMPLE 10

Expression de POP-66/ULIP-4 et des membres de la famille ULIP dans les cancers :

5 a - Matériels et méthodes : expériences de RT-PCR :

L'ARN total a été extrait en utilisant 1 ml de RNAZOL™B (Bioprobe) selon la méthode de Chomczynski et Sacchi. La quantité d'ARN a été déterminée par densité optique mesurée à 260 nm et sa pureté a été déterminée à partir du rapport des absorbances mesurées à 260 et 280 nm (rapports 1,8-2,0). L'intégrité des préparations d'ARN a été en outre vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % dans du TBE (0,45 M de Tris-borate, 10 mM d'EDTA, pH 8). La spécificité des amorces a été analysée en comparant leurs séquences avec les diverses banques de données de gènes (EMBL et FASTA). Pour une quantification relative, le gène codant pour la G3PDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, Clontech), gène ubiquitaire exprimé dans de nombreux tissus incluant le cerveau, a été co-amplifié avec l'ARNm testé en tant que standard interne pour vérifier l'égalité des quantités d'ARN des échantillons et pour tester l'efficacité de l'étape de transcription inverse pour les différents échantillons d'ARN. Les amorces 5', 3' et les oligonucléotides des sondes internes de G3PDH ont été synthétisées et purifiées par Eurogentec. L'ARNm total (1 µg) a été dénaturé (15 minutes à 65° C) et transcrit en ADNc simple brin (1 heure et demie, 42° C) dans un volume final de 20 µl de tampon (50 mM de Tris-HCl, 75 mM de KCl, pH 8,3, Gibco BRL) contenant 5 ng par µl d'amorce oligo-dT 12-18 (Pharmacia Biotech), 40 unités de reverse transcriptase du virus de la

leucémie murine Moloney (Mu-LV) (Gibco BRL), 40 unités de RNAsine (Promega), 10 mM DTT (Gibco BRL) et 0,5 mM de chacun des déoxynucléotides triphosphate (Promega). Les échantillons d'ADNc ont été dilués au 1 /10 dans de l'eau distillée et les réaction de PCR ont été

5 menées en utilisant 1 µl, 4 µl ou 2 µl de l'échantillon d'ADNc pour l'ARN messager d'ULIP-2 et ULIP-3 , dans un tampon (50 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCl, 0,1 % de Triton X100, 0,4 % de glycérol et 800 µM de NaCl, Ph 9); dans lequel a été ajouté 40 µM de DTT, 3 mM de MgCl₂, 0,2 mM de chaque dNTP, 0,4 µM de chaque amorce sélectionnée et 2 unités de

10 l'AmpliTaq ADN polymérase (Promega) dans un volume final de 50 µl. Les échantillons ont ensuite été placés dans un thermocycleur (Biomed-Hybaïd), dénaturés à 95°C pendant 5 minutes et amplifiés pendant 35 cycles (un cycle = dénaturation 95° C pendant 65 secondes, hybridation des amorces 60° C pendant 45 secondes, extension 72° C pendant 4

15 minutes et allongement finale 15 minutes à 72° C. Les produits ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose-Seakem à 1 % et les bandes tests des produits de RT-PCR de taille attendue ainsi que l'échelle de marqueur de poids moléculaire (100 paires de base) (Promega) ont été visualisés en utilisant la coloration au bromure d'éthidium.

20

Composition des sondes oligonucléotidiques utilisées pour la PCR ULIP-3
5' ATAGAGGAGCGGATGACG (899) 3'

GCTGTTATGGTCTTCAACTTGTCGG (1092)

GGCCTGTTATGGTCTTCAACTTGTCG (1093)

25 Composition des sondes oligonucléotidiques utilisées pour la PCR ULIP-2
5' AGGAGGAGTGAAGACCATCG 5227) 3'

CTTATGCCACTCGCTGATGTCC (509).

B - Résultats

Les expériences de RT-PCR montrent que TOAD-64 (ULIP-2) et C-22 (ULIP-3) sont exprimés dans certaines tumeurs du
5 poumon à petites cellules (cf. figure 8) et absents dans d'autres
notamment dans celles des patients qui développent des syndromes
neurologiques paranéoplasiques de meilleur pronostic.

La protéine POP-66/ULIP-4 ainsi que les protéines de la
famille ULIP pourraient être exprimées dans les tumeurs périphériques
10 (tumeur du poumon à petites cellules, thymome, cancer du sein et de
l'ovaire). Leur présence pourrait donc être corrélée à un pronostic. La
localisation du gène de POP-66/ULIP-4 sur la partie distale du
chromosome 10 le confirme dans le cas des tumeurs cérébrales.

15 Ainsi, l'expression différentielle des membres de la famille
ULIP dans des tumeurs telles que le cancer à petites cellules du poumon,
alors que le gène ULIP correspondant est absent dans un tissu sain, ainsi
que la modulation de l'expression des membres de la famille ULIP
obtenus lors de la différenciation par le rétrovirus humain HTLV1 d'une
20 lignée de médulloblastome, suggèrent l'implication des ULIP dans les
tumeurs cancéreuses.

BIBLIOGRAPHIE

- Anderson et al., CRC Crit. Rev. Neurobiol., 1987, vol. 3, pp 245-99
- 5 - Antoine J.C. et al., Journal of the Neurological Sciences, 1993, vol. 117, pp 215-223
- Byk et al., Journal of Neuroscience, 1996, vol. 16(2), pp 688-701
- 10 - Dalmau et al., Neurology, 1991, vol. 41, pp 1757-64
- Duchemin et al., Dev Neurosci, 1987, vol. 9, pp 61-67
- Graus et al., Neurology, 1985, vol. 35, pp 538-543
- 15 - Graus et al., Neurology, 1990, vol. 40, pp 219-22
- Greenlee et al., Ann. Neurol., 1983, vol. 14, pp 609-13
- 20 - Hamajima et al., Gene, 1996, vol. 180, pp. 157-163
- Hetzel et al., Mayo Clin. Proc., 1990, vol. 65, pp 1558-63
- Honnorat J. et al., Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry,
- 25 1996, vol. 61, pp 270-278
- Jaeckle et al., Ann. Neurol., 1985, vol. 18, pp 592-600

- Köhler et Milstein, Nature, 1975, vol. 256, pp 495-497

- Levy N., Mattei MG., 1995, Geneprobs II, a practical approach. BD
5 Hames and SJ Higgins, Oxford University Press, pp 211-243

- Luque et al., Ann. Neurol., 1991, vol. 29, pp 241-51

- Minturn et al., J. Neurosci., 1995, vol. 15, pp. 6757-6766
10

- Peltre G., Lapeyre J ; David B., Immunol. Lett., 1982, vol. 5 pp 127-131

- Sambrook et al., Molecular Cloning, a laboratory Manual, 1989, 9.47-
9.62
15

- Wang L-H et al., J. Neurosci., 1996, vol. 16(9), pp 6197-6207

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATION GENERALE:

(i) DEPOSANT:

- (A) NOM: Institut National de la Santé et de la
recherche médicale
- (B) RUE: 101, rue de Tolbiac
- (C) VILLE: Paris
- (E) PAYS: FRANCE
- (F) CODE POSTAL: 75013
- (G) TELEPHONE: 0144236000
- (H) TELECOPIE: 0145856856

(ii) TITRE DE L' INVENTION: Utilisation des Ulip dans les SNP et les
cancers associés

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 8

(iv) FORME LISTIBLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
- (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
- (C) SYSTEME D'EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
- (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (OEB)

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 1817 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

CTTCCTCCCG CCCCCCGGAG AGATGTCTTA TCAGGGGAAG AAAAATATTC CACCCATCAC	60
GAGCGATCGT CTTCTGATCA AAGGTGGCAA GATTGTGAAT GATGACCAGT CCTTCTATGC	120
AGACATATAC ATGGAAGATG GGTGATCAA GCAAATAGGA GAAAACCTGA TTGTACCAGG	180
AGGGGTGAAG ACCATCGAAG CCCACTCCAG AATGGTGATT CCCGGAGGAA TTGACGTGCA	240
TACTCGCTTC CAGATGCCTG ACCAGGGAAT GACATCCGCT GATGACTTCT TCCAGGGAAC	300
CAAGGCGGCC CTGGCCGGGG GAACCACCAT GATCATTGAC CATGTTGTTC CTGAGCCCGG	360
GACGAGCCTA TTGGCTGCCT TTGATCAGTG GAGGGAGTGG GCTGACAGCA AGTCCTGCTG	420
TGACTATTTC CTGCACGTGG ACATCACTGA GTGGCACAAG GGCATCCAGG AGGAGATGGA	480
AGCTCTGGTG AAGGACCACG GGGTAACTC CTTCTCGTG TACATGGCTT TCAAAGATCG	540
ATTCCAGCTG ACGGATTCCC AGATCTATGA AGTGCTGAGC GTGATCCGGG ATATCGGTGC	600
CATAGCTCAA GTCCACGCAG AGAATGGTGA CATCATTGCT GAGGCACAGC AGAGGATCCT	660
GGATCTGGGC ATCACGGGCC CCGAGGGACA CGTGTGAGC CGGCCAGAGG AGGTCGAGGC	720

TGAAGCTGTG AACCGGTCCA TCACTATTGC CAACCAGACC AACTGCCCTC TGTATGTCAC 780
 CAAAGTGATG CCAAGAGTG CGGCTGAAGT CATCGCTCAG GCACGGAAGA AGGGAAGTGT 840
 GGTGTATGGT GAGCCCATCA CGGCCAGCCT GGGGACTGAT GGCTCTCATT ACTGGAGCAA 900
 GAACTGGGCC AAGGCTGCGG CCTTTGTAC CTCCCCACCC TTGAGCCCCG ACCCAACCAC 960
 TCCAGACTTT CTCAACTCGT TGCTGTCCTG TGGAGACCTC CAAGTCACTG GCAGTGCCCA 1020
 CTGCACCTTC AACACTGCCC AGAAGGCTGT GGGGAAGGAC AACTTCACCT TGATTCCCGA 1080
 GGGCACCAAC GGCAGTGAGG AGCGGATGTC TGTCAATTGG GATAAAGCTG TGGTCACTGG 1140
 GAAGATGGAT GAGAATCAGT TTGTGGCTGT GACCAGCACC AACGCAGCCA AAGTCTTCAA 1200
 CCTTTACCCC CGGAAAGGTC GCATCTCGGT GGGATCTGAT GCTGACTTGG TCATCTGGGA 1260
 CCCTGACAGT GTGAAGACCA TCTCTGCCAA GACACACAAC AGTGCTCTTG AGTACAACAT 1320
 CTTTGAAGGC ATGGAGTGTC GCGGCTCCCC ACTGGTGGTC ATCAGCCAGG GCAAGATTGT 1380
 CCTGGAGGAC GGCACACTTC ATGTCACTGA AGGCTCAGGA CGCTACATTC CCCGGAAGCC 1440
 CTTCCCTGAC TTTGTGTACA AACGCATCAA AGCAAGGAGC AGGCTGGCTG AGCTGAGAGG 1500
 GGTCCCTCGT GGCCTGTATG ACGGACCGGT ATGCGAGGTG TCTGTGACGC CCAAGACGGT 1560
 GACTCCAGCC TCATCAGCTA AGACATCCCC TGCCAAGCAG CAGGCACCAC CTGTTCGGAA 1620
 CCTGCACCAG TCTGGATTCA GCTTGTCTGG TGCTCAGATT GACGACAACA TTCCCCGCCG 1680
 CACCACCCAG CGCATCGTGG CACCCCCTGG TGGCCGTGCC AACATCACCA GCCTGGGCTA 1740
 AAGCCCCTAG GCCTGCAGGC CACTTGGGGA TGGGGGATGG GACACCTGAG GACATTCTGA 1800
 GACTTCCTTT CTTCCAT 1817

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- (A) LONGUEUR: 572 acides aminés
 - (B) TYPE: acide aminé
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Met	Ser	Tyr	Gln	Gly	Lys	Lys	Asn	Ile	Pro	Pro	Ile	Thr	Ser	Asp	Arg
1				5					10					15	
Leu	Leu	Ile	Lys	Gly	Gly	Lys	Ile	Val	Asn	Asp	Asp	Gln	Ser	Phe	Tyr
			20					25					30		
Ala	Asp	Ile	Tyr	Met	Glu	Asp	Gly	Leu	Ile	Lys	Gln	Ile	Gly	Glu	Asn
			35				40					45			
Leu	Ile	Val	Pro	Gly	Gly	Val	Lys	Thr	Ile	Glu	Ala	His	Ser	Arg	Met
		50				55					60				

Val Ile Pro Gly Gly Ile Asp Val His Thr Arg Phe Gln Met Pro Asp
 65 70 75 80
 Gln Gly Met Thr Ser Ala Asp Asp Phe Phe Gln Gly Thr Lys Ala Ala
 85 90 95
 Leu Ala Gly Gly Thr Thr Met Ile Ile Asp His Val Val Pro Glu Pro
 100 105 110
 Gly Thr Ser Leu Leu Ala Ala Phe Asp Gln Trp Arg Glu Trp Ala Asp
 115 120 125
 Ser Lys Ser Cys Cys Asp Tyr Ser Leu His Val Asp Ile Thr Glu Trp
 130 135 140
 His Lys Gly Ile Gln Glu Glu Met Glu Ala Leu Val Lys Asp His Gly
 145 150 155 160
 Val Asn Ser Phe Leu Val Tyr Met Ala Phe Lys Asp Arg Phe Gln Leu
 165 170 175
 Thr Asp Ser Gln Ile Tyr Glu Val Leu Ser Val Ile Arg Asp Ile Gly
 180 185 190
 Ala Ile Ala Gln Val His Ala Glu Asn Gly Asp Ile Ile Ala Glu Ala
 195 200 205
 Gln Gln Arg Ile Leu Asp Leu Gly Ile Thr Gly Pro Glu Gly His Val
 210 215 220
 Leu Ser Arg Pro Glu Glu Val Glu Ala Glu Ala Val Asn Arg Ser Ile
 225 230 235 240
 Thr Ile Ala Asn Gln Thr Asn Cys Pro Leu Tyr Val Thr Lys Val Met
 245 250 255
 Pro Lys Ser Ala Ala Glu Val Ile Ala Gln Ala Arg Lys Lys Gly Thr
 260 265 270
 Val Val Tyr Gly Glu Pro Ile Thr Ala Ser Leu Gly Thr Asp Gly Ser
 275 280 285
 His Tyr Trp Ser Lys Asn Trp Ala Lys Ala Ala Ala Phe Val Thr Ser
 290 295 300
 Pro Pro Leu Ser Pro Asp Pro Thr Thr Pro Asp Phe Leu Asn Ser Leu
 305 310 315 320
 Leu Ser Cys Gly Asp Leu Gln Val Thr Gly Ser Ala His Cys Thr Phe
 325 330 335
 Asn Thr Ala Gln Lys Ala Val Gly Lys Asp Asn Phe Thr Leu Ile Pro
 340 345 350
 Glu Gly Thr Asn Gly Thr Glu Glu Arg Met Ser Val Ile Trp Asp Lys
 355 360 365
 Ala Val Val Thr Gly Lys Met Asp Glu Asn Gln Phe Val Ala Val Thr
 370 375 380
 Ser Thr Asn Ala Ala Lys Val Phe Asn Leu Tyr Pro Arg Lys Gly Arg
 385 390 395 400
 Ile Ser Val Gly Ser Asp Ala Asp Leu Val Ile Trp Asp Pro Asp Ser
 405 410 415

Val Lys Thr Ile Ser Ala Lys Thr His Asn Ser Ala Leu Glu Tyr Asn
420 425 430

Ile Phe Glu Gly Met Glu Cys Arg Gly Ser Pro Leu Val Val Ile Ser
435 440 445

Gln Gly Lys Ile Val Leu Glu Asp Gly Thr Leu His Val Thr Glu Gly
450 455 460

Ser Gly Arg Tyr Ile Pro Arg Lys Pro Phe Pro Asp Phe Val Tyr Lys
465 470 475 480

Arg Ile Lys Ala Arg Ser Arg Leu Ala Glu Leu Arg Gly Val Pro Arg
485 490 495

Gly Leu Tyr Asp Gly Pro Val Cys Glu Val Ser Val Thr Pro Lys Thr
500 505 510

Val Thr Pro Ala Ser Ser Ala Lys Thr Ser Pro Ala Lys Gln Gln Ala
515 520 525

Pro Pro Val Arg Asn Leu His Gln Ser Gly Phe Ser Leu Ser Gly Ala
530 535 540

Gln Ile Asp Asp Asn Ile Pro Arg Arg Thr Thr Gln Arg Ile Val Ala
545 550 555 560

Pro Pro Gly Gly Arg Ala Asn Ile Thr Ser Leu Gly
565 570

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 2297 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

GCTGTCTGTC TTCAGCGCCC TCCTCTCGCC CTGCCTCTCC CTCCTCCTCC CGCCCTCCTT	60
GCCAAGCCGG GCGGTGCAGG CAGCCGGAGC AGCGGCGGCG GGCCGAGCAG CGGQGAGTGG	120
GCAGCGGTGG GAGCCGAGCT TCTGTCCTTT CTTTCATCCC TCCCTGGCCT TTGTCGCCGC	180
TCTCAGAGT AGCGCCGCCG GGAGAGACCC GGGTAGAGCG CCAGGCAGAC GTTAGTTCCA	240
GCGGCCGGGC GGAGGGCTCC AGAGGGGCCA TGTCTCATCA GGGGAAGAAG AGCATCCCGC	300
ACATCACCAG TGACCGGCTC CTCATCAGAG GTGGACGCAT CATCAATGAT GACCAGTCCT	360
TCTACGCCGA TGTCTACCTA GAAGATGGAC TCATAAAACA AATAGGAGAG AACCTGATTG	420
TTCCTGGTGG AGTGAAGACC ATCGAGGCGA ATGGCCGAAT GGTCATTCCC GGTGGCATTG	480
ATGTCAACAC TTACCTGCAG AAGCCCTCCC AGGGCATGAC CTCGGCTGAT GACTTCTTCC	540
AGGGCACTAA AGCAGCGCTG GCAGGTGGAA CCACGATGAT CATTGACCAC GTTGTTCTCTG	600

AACCTGGGTC	CAGCTTGTTG	ACTTCCTTTG	AGAAATGGCA	CGAAGCAGCA	GACACCAAAT	660
CCTGCTGTGA	CTATTCCTTC	CACGTGGACA	TCACAAGCTG	GTATGATGGT	GTTCCGGGAAG	720
AGCTGGAGGT	GCTGGTGCAG	GACAAAGGTG	TCAACTCCTT	CCAAGTCTAC	ATGGCGTATA	780
AGGACCTGTA	CCAGATGTCT	GACAGCCAGC	TGTATGAAGC	CTTCACCTTC	CTTAAGGGTT	840
TGGGAGCTGT	GATCTTAGTC	CATGCAGAAA	ATGGAGATTT	GATAGCTCAG	GAACAAAAAC	900
GGATCCTGGA	GATGGGCATC	ACGGGTCCCG	AGGGTCATGC	TCTGAGCAGA	CCCAGGAGC	960
TGGAGGCCGA	GGCTGTGTTT	CGGGCTATTG	CCATTGCAGG	CCGGATCAAT	TGCCCTGTGT	1020
ACATCACCAA	GGTCATGAGC	AAGAGTGCAG	CGGACATCAT	CGCACTGGCC	AGGAAGAAAG	1080
GCCCTCTTGT	CTTCGGTGAG	CCCATAGCCG	CCAGCCTGGG	AACCGATGGC	ACCCACTACT	1140
GGAGCAAGAA	CTGGGCCAAG	GCAGCTGCAT	TTGTGACTTC	CCCTCCCCTG	AGCCCAGACC	1200
CCACCACTCC	TGACTACTTG	ACCTCCTTGC	TGGCCTGTGG	AGACTTGCAG	GTCACAGGTA	1260
GTGGCCACTG	TCCCTACAGT	ATTGCTCAGA	AGGCTGTGGG	CAAGGACAAC	TTCACTCTGA	1320
TCCCTGAGGG	TGTCAATGGT	ATAGAAGAGC	GGATGACCGT	TGTCTGGGAC	AAGGCAGTGG	1380
CTACTGGCAA	GATGGATGAG	AACCAGTTTG	TAGCCGTCAC	CAGCACCAAC	GCAGCCAAGA	1440
TCTTCAACCT	GTACCCGAGG	AAAGGTCGGA	TCGCTGTGGG	CTCCGATGCT	GACGTAGTCA	1500
TCTGGGACCC	AGATAAGATG	AAGACCATAA	CAGCCAAAAG	CCATAAATCA	ACTGTGGAGT	1560
ACAACATCTT	TGAGGGCATG	GAGTGCCACG	GCTCCCCCTT	GGTGGTCATC	AGTCAGGGCA	1620
AGATTGTCTT	TGAGGATGGA	AACATCAGTG	TCAGCAAGGG	CATGGGCCGC	TTCATCCCTC	1680
GGAAGCCATT	CCCAGAGCAT	CTCTACCAGC	GTGTCAGGAT	CAGAAGCAAG	GTTTTCCGGT	1740
TGCATAGTGT	TTCCAGGGGC	ATGTACGATG	GGCCTGTGTA	CGAGGTGCCA	GCTACACCCA	1800
AACATGCTGC	TCCTGCTCCT	TCTGCCGAAT	CCTCGCCTTC	TAAACACCAA	CCCCACCCA	1860
TCCGGAACCT	CCACCAGTCC	AACCTCAGCT	TATCAGGTGC	CCAGATAGAT	GACAACAATC	1920
CAAGGCGTAC	AGGCCACCGC	ATTGTGGCGC	CCCCTGGTGG	CCGCTCCAAC	ATCACCAGCC	1980
TCGTTGACC	TCAGATGAGC	CAGATATGCA	AGAGTGAAGG	ATTATGGGAA	AACGTCCATT	2040
CCTTTTCCGT	GTTTTTGAAG	CCCACAGTTT	TAGTTGGTAC	TGACGGAGGG	GAGATTGAGC	2100
GATGCTCTTT	CCTTCTCTGT	TTAGGAAGAA	GTGGTACTAG	TGTGGTGTGT	TTGCCTGGAA	2160
GTCCCTCGCC	CACAGTGTGT	GTTACACCG	ACTCCACCTC	AGAGCATGGT	GCCGTCCGTT	2220
TTCCCTTCCT	AGTGACCCCA	GGTTTAGCAT	CGTCCTATAC	TGTTCCCTCC	ACTCCTCCAT	2280
GACCCTCTGA	GTGATGG					2297

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 572 acides aminés
 - (B) TYPE: acide aminé
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(vi) ORIGINE:

(A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

Met	Ser	His	Gln	Gly	Lys	Lys	Ser	Ile	Pro	His	Ile	Thr	Ser	Asp	Arg	1	5	10	15
Leu	Leu	Ile	Arg	Gly	Gly	Arg	Ile	Ile	Asn	Asp	Asp	Gln	Ser	Phe	Tyr	20	25	30	
Ala	Asp	Val	Tyr	Leu	Glu	Asp	Gly	Leu	Ile	Lys	Gln	Ile	Gly	Glu	Asn	35	40	45	
Leu	Ile	Val	Pro	Gly	Gly	Val	Lys	Thr	Ile	Glu	Ala	Asn	Gly	Arg	Met	50	55	60	
Val	Ile	Pro	Gly	Gly	Ile	Asp	Val	Asn	Thr	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Ser	65	70	75	80
Gln	Gly	Met	Thr	Ser	Ala	Asp	Asp	Phe	Phe	Gln	Gly	Thr	Lys	Ala	Ala	85	90	95	
Leu	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Met	Ile	Ile	Asp	His	Val	Val	Pro	Glu	Pro	100	105	110	
Gly	Ser	Ser	Leu	Leu	Thr	Ser	Phe	Glu	Lys	Trp	His	Glu	Ala	Ala	Asp	115	120	125	
Thr	Lys	Ser	Cys	Cys	Asp	Tyr	Ser	Leu	His	Val	Asp	Ile	Thr	Ser	Trp	130	135	140	
Tyr	Asp	Gly	Val	Arg	Glu	Glu	Leu	Glu	Val	Leu	Val	Gln	Asp	Lys	Gly	145	150	155	160
Val	Asn	Ser	Phe	Gln	Val	Tyr	Met	Ala	Tyr	Lys	Asp	Leu	Tyr	Gln	Met	165	170	175	
Ser	Asp	Ser	Gln	Leu	Tyr	Glu	Ala	Phe	Thr	Phe	Leu	Lys	Gly	Leu	Gly	180	185	190	
Ala	Val	Ile	Leu	Val	His	Ala	Glu	Asn	Gly	Asp	Leu	Ile	Ala	Gln	Glu	195	200	205	
Gln	Lys	Arg	Ile	Leu	Glu	Met	Gly	Ile	Thr	Gly	Pro	Glu	Gly	His	Ala	210	215	220	
Leu	Ser	Arg	Pro	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Glu	Ala	Val	Phe	Arg	Ala	Ile	225	230	235	240
Ala	Ile	Ala	Gly	Arg	Ile	Asn	Cys	Pro	Val	Tyr	Ile	Thr	Lys	Val	Met	245	250	255	
Ser	Lys	Ser	Ala	Ala	Asp	Ile	Ile	Ala	Leu	Ala	Arg	Lys	Lys	Gly	Pro	260	265	270	
Leu	Val	Phe	Gly	Glu	Pro	Ile	Ala	Ala	Ser	Leu	Gly	Thr	Asp	Gly	Thr	275	280	285	
His	Tyr	Trp	Ser	Lys	Asn	Trp	Ala	Lys	Ala	Ala	Ala	Phe	Val	Thr	Ser	290	295	300	

Pro	Pro	Leu	Ser	Pro	Asp	Pro	Thr	Thr	Pro	Asp	Tyr	Leu	Thr	Ser	Leu	305	310	315	320
Leu	Ala	Cys	Gly	Asp	Leu	Gln	Val	Thr	Gly	Ser	Gly	His	Cys	Pro	Tyr	325	330	335	
Ser	Ile	Ala	Gln	Lys	Ala	Val	Gly	Lys	Asp	Asn	Phe	Thr	Leu	Ile	Pro	340	345	350	
Glu	Gly	Val	Asn	Gly	Ile	Glu	Glu	Arg	Met	Thr	Val	Val	Trp	Asp	Lys	355	360	365	
Ala	Val	Ala	Thr	Gly	Lys	Met	Asp	Glu	Asn	Gln	Phe	Val	Ala	Val	Thr	370	375	380	
Ser	Thr	Asn	Ala	Ala	Lys	Ile	Phe	Asn	Leu	Tyr	Pro	Arg	Lys	Gly	Arg	385	390	395	400
Ile	Ala	Val	Gly	Ser	Asp	Ala	Asp	Val	Val	Ile	Trp	Asp	Pro	Asp	Lys	405	410	415	
Met	Lys	Thr	Ile	Thr	Ala	Lys	Ser	His	Lys	Ser	Thr	Val	Glu	Tyr	Asn	420	425	430	
Ile	Phe	Glu	Gly	Met	Glu	Cys	His	Gly	Ser	Pro	Leu	Val	Val	Ile	Ser	435	440	445	
Gln	Gly	Lys	Ile	Val	Phe	Glu	Asp	Gly	Asn	Ile	Ser	Val	Ser	Lys	Gly	450	455	460	
Met	Gly	Arg	Phe	Ile	Pro	Arg	Lys	Pro	Phe	Pro	Glu	His	Leu	Tyr	Gln	465	470	475	480
Arg	Val	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Val	Phe	Gly	Leu	His	Ser	Val	Ser	Arg	485	490	495	
Gly	Met	Tyr	Asp	Gly	Pro	Val	Tyr	Glu	Val	Pro	Ala	Thr	Pro	Lys	His	500	505	510	
Ala	Ala	Pro	Ala	Pro	Ser	Ala	Glu	Ser	Ser	Pro	Ser	Lys	His	Gln	Pro	515	520	525	
Pro	Pro	Ile	Arg	Asn	Leu	His	Gln	Ser	Asn	Phe	Ser	Leu	Ser	Gly	Ala	530	535	540	
Gln	Ile	Asp	Asp	Asn	Asn	Pro	Arg	Arg	Thr	Gly	His	Arg	Ile	Val	Ala	545	550	555	560
Pro	Pro	Gly	Gly	Arg	Ser	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu	Gly					565	570		

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO:5:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 1920 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

GCTGACTAAT ATGCTTAAAT TCAGCGGGTC GCCACGTCTG GTCGGTACGT CCACGCCCCG	60
GCAGCCCCTA CCGAGGACAC TCAGCCCGCC CGTGTATCAG GATGTCCTTC CAAGGCAAGA	120
AGAGCATTCC CCGGATAACG AGCGACCGCC TTCTCATCAA AGGTGGGAAG ATTGTGAACG	180
ATGACCAGTC CTTTCATGCT GATCTGTATG TGGAAGACGG TCTGATTAAA CAAATTGGAG	240
AAAATCTCAT CGTCCCTGGG GGCATCAAAA CCATCGATGC TCATGGCCTG ATGGTGCTGC	300
CTGGGGGAGT TGACGTTTAC ACCCGGCTGC AGATGCCTGT GATGGGCATG ACCCCAGCTG	360
ATGATTTCTG TCAGGGCACC AAGGCGGCTC TAGCAGGCGG GACCACCATG ATATTGGACC	420
ATGTGTTTTCC TGACGCTGGT GTGAGCCTGC TGGCAGCCTA TGAGCAGTGG CGGGACGGAG	480
CAGACAGCGC GGCCTGCTGT GACTACTCCT TACATGTGGA CATTCCTCGC TGGCACGAGA	540
GCACCAAAGA AGAGCTGGAG GCCCTAGTCA GGGACAAAGG TGTGAACTCC TTCCTGGTCT	600
TCATGGCATA CAAGGACAGG TGCCAGTGTA CTGACGGTCA GATATATGAA ATCTTCAGCC	660
TCATCCGGGA CCTGGGAGCT GTGGCCCAGG TGCACGCAGA AAATGGGGAC ATCGTGGAGG	720
AGGAACAGAA GCGCCTGCTG GAGCAAGGCA TCACTGGTCC TGAGGGCCAT GTGCTCAGCC	780
ACCCAGAAGA GGTAGAGGCC GAGGCTGTGT ACAGAGCAGT CACCATTGCC AAGCAGGCCA	840
ACTGCCCCACT ATACGTCACC AAGGTGATGA GCAAGGGTGC AGCTGACATG GTTGCCCCAAG	900
CCAAGCGCAG GGGGGTGGTC GTCTTTGGGG AACCTATCAC TGCCAGCCTG GGCCTGATG	960
GCTCACACTA CTGGAGCAAG AACTGGGCCA AGGCTGCAGC CTTTGTCACT TCACCCCCTA	1020
TCAACCCGGA CCCTACTACT GCAGACCACC TCACCTCTCT GCTGTCCAGT GGGGACCTCC	1080
AGGTGACAGG CAGTGCCAC TGCACCTTCA CTA CTGCCCCA GAAGGCTGTT GGCAAAGACA	1140
ACTTCACACT GATCCCCGAG GTAGTCAACG GTATAGAAGA GCGCATGTCT GTGGTCTGGG	1200
AGAAATGTGT GGCTTCAGGG AAAATGGACG AGAATGAGTT CGTTGCCGTG ACCAGCACAA	1260
ATGCTGCCAA AATCTTCAAT TTTTACCCCA GGAAGGGGCG TGTGGCCGTG GGCTCTGATG	1320
CTGACCTGGT CATCTGGAAC CCCAGGGCCA CGAAAGTCAT CTCTGCCAAG AGCCATAACC	1380
TGAATGTAGA GTACAACATC TTTGAAGGAG TGGAGTGCCG AGGAGTGCCC ACGGTGGTCA	1440
TAAGTCAGGG CAGAGTGGTG CTGGAGGACG GAAACCTGCT TGTCCTCCA GGGGCTGGCC	1500
GCTTCATTCC CCGGAAGACG TTCCCGGACT TTGTCTATAA GAGGATAAAG GCTCGCAACA	1560
GGCTAGCAGA GATCCACGGT GTGCCTCGAG GCCTGTACGA CGGGCCTGTG CATGAAGTGA	1620
TGTTACCTGC CAAGCCAGGA AGTGGCACAC AGGCCCGTGC ATCCTGTTCA GGCAAGATCT	1680
CAGTGCCACC CGTGCGCAAC CTGCACCAGT CGGGGTTTCA CCTATCTGGC TCTCAGGCTG	1740
ACGATCACAT TGCCAGACGT ACGGCTCAGA AGATCATGGC ACCCCCCGGA GGACGCTCCA	1800
ACATCACGTC TCTTTCCTAG ACTTGGGGTC TTGGCAAGCT GGTGCTGTCC CCACTGGCAG	1860
GGTGTGGGGA CGACTCACGT CAGTTAGCTC CTTCTTTTGT AGATTGTTAT TGTGAAAGGC	1920

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 6:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 572 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Mus musculus

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

Met	Ser	Phe	Gln	Gly	Lys	Lys	Ser	Ile	Pro	Arg	Ile	Thr	Ser	Asp	Arg	1	5	10	15
Leu	Leu	Ile	Lys	Gly	Gly	Lys	Ile	Val	Asn	Asp	Asp	Gln	Ser	Phe	His	20	25	30	
Ala	Asp	Leu	Tyr	Val	Glu	Asp	Gly	Leu	Ile	Lys	Gln	Ile	Gly	Glu	Asn	35	40	45	
Leu	Ile	Val	Pro	Gly	Gly	Ile	Lys	Thr	Ile	Asp	Ala	His	Gly	Leu	Met	50	55	60	
Val	Leu	Pro	Gly	Gly	Val	Asp	Val	His	Thr	Arg	Leu	Gln	Met	Pro	Val	65	70	75	80
Met	Gly	Met	Thr	Pro	Ala	Asp	Asp	Phe	Cys	Gln	Gly	Thr	Lys	Ala	Ala	85	90	95	
Leu	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Met	Ile	Leu	Asp	His	Val	Phe	Pro	Asp	Ala	100	105	110	
Gly	Val	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Tyr	Glu	Gln	Trp	Arg	Asp	Gly	Ala	Asp	115	120	125	
Ser	Ala	Ala	Cys	Cys	Asp	Tyr	Ser	Leu	His	Val	Asp	Ile	Pro	Arg	Trp	130	135	140	
His	Glu	Ser	Thr	Lys	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Leu	Val	Arg	Asp	Lys	Gly	145	150	155	160
Val	Asn	Ser	Phe	Leu	Val	Phe	Met	Ala	Tyr	Lys	Asp	Arg	Cys	Gln	Cys	165	170	175	
Thr	Asp	Gly	Gln	Ile	Tyr	Glu	Ile	Phe	Ser	Leu	Ile	Arg	Asp	Leu	Gly	180	185	190	
Ala	Val	Ala	Gln	Val	His	Ala	Glu	Asn	Gly	Asp	Ile	Val	Glu	Glu	Glu	195	200	205	
Gln	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Gln	Gly	Ile	Thr	Gly	Pro	Glu	Gly	His	Val	210	215	220	
Leu	Ser	His	Pro	Glu	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Ala	Val	Tyr	Arg	Ala	Val	225	230	235	240
Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ala	Asn	Cys	Pro	Leu	Tyr	Val	Thr	Lys	Val	Met	245	250	255	

Ser Lys Gly Ala Ala Asp Met Val Ala Gln Ala Lys Arg Arg Gly Val
 260 265 270
 Val Val Phe Gly Glu Pro Ile Thr Ala Ser Leu Gly Thr Asp Gly Ser
 275 280 285
 His Tyr Trp Ser Lys Asn Trp Ala Lys Ala Ala Ala Phe Val Thr Ser
 290 295 300
 Pro Pro Ile Asn Pro Asp Pro Thr Thr Ala Asp His Leu Thr Ser Leu
 305 310 315 320
 Leu Ser Ser Gly Asp Leu Gln Val Thr Gly Ser Ala His Cys Thr Phe
 325 330 335
 Thr Thr Ala Gln Lys Ala Val Gly Lys Asp Asn Phe Thr Leu Ile Pro
 340 345 350
 Glu Val Val Asn Gly Ile Glu Glu Arg Met Ser Val Val Trp Glu Lys
 355 360 365
 Cys Val Ala Ser Gly Lys Met Asp Glu Asn Glu Phe Val Ala Val Thr
 370 375 380
 Ser Thr Asn Ala Ala Lys Ile Phe Asn Phe Tyr Pro Arg Lys Gly Arg
 385 390 395 400
 Val Ala Val Gly Ser Asp Ala Asp Leu Val Ile Trp Asn Pro Arg Ala
 405 410 415
 Thr Lys Val Ile Ser Ala Lys Ser His Asn Leu Asn Val Glu Tyr Asn
 420 425 430
 Ile Phe Glu Gly Val Glu Cys Arg Gly Val Pro Thr Val Val Ile Ser
 435 440 445
 Gln Gly Arg Val Val Leu Glu Asp Gly Asn Leu Leu Val Thr Pro Gly
 450 455 460
 Ala Gly Arg Phe Ile Pro Arg Lys Thr Phe Pro Asp Phe Val Tyr Lys
 465 470 475 480
 Arg Ile Lys Ala Arg Asn Arg Leu Ala Glu Ile His Gly Val Pro Arg
 485 490 495
 Gly Leu Tyr Asp Gly Pro Val His Glu Val Met Leu Pro Ala Lys Pro
 500 505 510
 Gly Ser Gly Thr Gln Ala Arg Ala Ser Cys Ser Gly Lys Ile Ser Val
 515 520 525
 Pro Pro Val Arg Asn Leu His Gln Ser Gly Phe Ser Leu Ser Gly Ser
 530 535 540
 Gln Ala Asp Asp His Ile Ala Arg Arg Thr Ala Gln Lys Ile Met Ala
 545 550 555 560
 Pro Pro Gly Gly Arg Ser Asn Ile Thr Ser Leu Ser
 565 570

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 7:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- (A) LONGUEUR: 1690 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(vi) ORIGINE:

(A) ORGANISME: Homo sapiens

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

GCCGCCCCCTA CCAGAGACCC CCAGGAGCAG GATGTCCTTC CAGGGCAAGA AAAGCATCCC	60
CCGGATCACG AGTGACCGCC TTCTGATCAG AGGTGGGAGG ATCGTGAATG ACGACCAGTC	120
CTTTTACGCT GATGTGCACG TGAAGATGG CTTGATAAAA CAAATCGGAG AAAACCTCAT	180
CGTCCCTGGG GGCATCAAGA CCATTGACGC CCACGGCCTG ATGGTCCTTC CTGGTGGCGT	240
TGACGTCCAC ACAAGGCTGC AGATGCCTGT CCTGGGCATG ACACCGGCTG ACGACTTCTG	300
TCAGGGCACC AAGGCAGCGC TAGCAGGAGG AACCACCATG ATCTTGACC ACGTCTTCCC	360
CGACACGGGT GTGAGCCTGC TGGCGGCCTA CGAGCAGTGG CGGGAGCGGG CGGACAGCGC	420
GGCCTGCTGC GACTACTCCC TGCACGTGGA CATCACCCGA TGGCATGAGA GCATCAAGGA	480
GGAGCTGGAG GCCCTGGTCA AGGAGAAGGG TGTGAACTCC TTCCTGGTCT TCATGGCATA	540
CAAGGACCGG TGCCAGTGCA GCGACAGCCA GATGTACGAG ATCTTCAGCA TCATCCGGGA	600
CCTGGGGGCC TTGGCCCAGG TGCACGCTGA GAACGGGGAC ATCGTGGAGG AGGAGCAGAA	660
GCGGTTGCTG GAGCTCGGCA TCACTGGCCC CGAGGGCCAC GTGCTCAGCC ACCCCGAGGA	720
GGTGGAGGCT GAGGCGGTGT ACCGAGCTGT CACCATCGCC AAGCAGGCAA ACTGCCCGCT	780
GTACGTCACC AAGGTGATGA GCAAGGGGGC GGCCGACGCC ATCGCTCAGG CCAAGCGCAG	840
AGGGGTGGTC GTGTTTGGGG AGCCCATCAC CGCCAGCCTG GGCACCGACG GTTCACACTA	900
CTGGAGCAAG AACTGGGCCA AGGCTGCAGC CTTGCTCACA TCACCCCTG TCAACCCAGA	960
CCCCACCACG GCAGACCACC TCACCTGCTT GCTGTCCAGC GGGGACCTCC AGGTGACAGG	1020
CAGCGCCAC TGCACCTTCA CCACTGCCCC GAAGGCTGTG GGCAAGGACA ACTTCGCGCT	1080
GATCCCCGAG GGCACCAACG GCATTGAGGA GCGCATGTCG ATGGTCTGGG AGAAATGTGT	1140
GGCCTCTGGG AAGATGGACG AGAATGAGTT CGTCGCGGTG ACCAGTACAA ATGCTGCCAA	1200
AATCTTCAAT TTTTACCCAA GGAAGGGGCG AGTGGCTGTG GGCTCTGACG CTGACCTGGT	1260
CATATGGAAC CCCAAGGCCA CCAAGATCAT CTCTGCCAAG ACCCACAATC TGAACGTGGA	1320
GTACAACATC TTCGAGGGAG TGGAGTGCCG GGGAGCGCCT GCCGTGGTCA TAAGTCAGGG	1380
CCGAGTGGCG CTGGAGGACG GGAAGATGTT TGTCACCCCG GGGGCGGGCC GCTTCGTCCC	1440
TCGGAAAACA TTCCCGGACT TTGTCTACAA GAGGATCAAA GCTCGCAACA GGCTGGCGGA	1500
GATCCACGGT GTGCCCCGTG GGCTGTATGA CGGGCCCGTC CACGAGGTGA TGGTGCCTGC	1560
CAAGCCAGGG AGTGGCGCTC CGGCCCGCGC GTCCTGCCCA GGCAAGATCT CCGTGCCTCC	1620
TGTGCGCAAC CTACATCAGT CGGGGTTTCA CCTATCTGGG TCTCAGGCTG ATGACCACAT	1680

CGCCCGACGC

1690

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 8:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 572 acides aminés.
 (B) TYPE: acide aminé
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(vi) ORIGINE:

(A) ORGANISME: Homo sapiens

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

Met	Ser	Phe	Gln	Gly	Lys	Lys	Ser	Ile	Pro	Arg	Ile	Thr	Ser	Asp	Arg
1				5					10					15	
Leu	Leu	Ile	Arg	Gly	Gly	Arg	Ile	Val	Asn	Asp	Asp	Gln	Ser	Phe	Tyr
			20					25					30		
Ala	Asp	Val	His	Val	Glu	Asp	Gly	Leu	Ile	Lys	Gln	Ile	Gly	Glu	Asn
		35					40					45			
Leu	Ile	Val	Pro	Gly	Gly	Ile	His	Thr	Ile	Asp	Ala	His	Gly	Leu	Met
	50					55					60				
Val	Leu	Pro	Gly	Gly	Val	Asp	Val	His	Thr	Arg	Leu	Gln	Met	Pro	Val
65					70					75					80
Leu	Gly	Met	Thr	Pro	Ala	Asp	Asp	Phe	Cys	Gln	Gly	Thr	Lys	Ala	Ala
				85					90					95	
Leu	Ala	Gly	Gly	Thr	Thr	Met	Ile	Leu	Asp	His	Val	Phe	Pro	Asp	Thr
				100				105					110		
Gly	Val	Ser	Leu	Leu	Ala	Ala	Tyr	Glu	Gln	Trp	Arg	Glu	Arg	Ala	Asp
		115					120					125			
Ser	Ala	Ala	Cys	Cys	Asp	Tyr	Ser	Leu	His	Val	Asp	Ile	Thr	Arg	Trp
	130					135					140				
His	Glu	Ser	Ile	Lys	Glu	Glu	Leu	Glu	Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Lys	Gly
145				150						155					160
Val	Asn	Ser	Phe	Leu	Val	Phe	Met	Ala	Tyr	Lys	Asp	Arg	Cys	Gln	Cys
				165					170					175	
Ser	Asp	Ser	Gln	Met	Tyr	Glu	Ile	Phe	Ser	Ile	Ile	Arg	Asp	Leu	Gly
			180					185					190		
Ala	Leu	Ala	Gln	Val	His	Ala	Glu	Asn	Gly	Asp	Ile	Val	Glu	Glu	Glu
		195					200					205			
Gln	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Leu	Gly	Ile	Thr	Gly	Pro	Glu	Gly	His	Val
	210					215					220				
Leu	Ser	His	Pro	Glu	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Ala	Val	Tyr	Arg	Ala	Val
225				230					235						240
Thr	Ile	Ala	Lys	Gln	Ala	Asn	Cys	Pro	Leu	Tyr	Val	Thr	Lys	Val	Met
				245					250					255	

Ser Lys Gly Ala Ala Asp Ala Ile Ala Gln Ala Lys Arg Arg Gly Val
 260 265 270
 Val Val Phe Gly Glu Pro Ile Thr Ala Ser Leu Gly Thr Asp Gly Ser
 275 280 285
 His Tyr Trp Ser Lys Asn Trp Ala Lys Ala Ala Phe Val Thr Ser
 290 295 300
 Pro Pro Val Asn Pro Asp Pro Thr Thr Ala Asp His Leu Thr Cys Leu
 305 310 315 320
 Leu Ser Ser Gly Asp Leu Gln Val Thr Gly Ser Ala His Cys Thr Phe
 325 330 335
 Thr Thr Ala Gln Lys Ala Val Gly Lys Asp Asn Phe Ala Leu Ile Pro
 340 345 350
 Glu Gly Thr Asn Gly Ile Glu Glu Arg Met Ser Met Val Trp Glu Lys
 355 360 365
 Cys Val Ala Ser Gly Lys Met Asp Glu Asn Glu Phe Val Ala Val Thr
 370 375 380
 Ser Thr Asn Ala Ala Lys Ile Phe Asn Phe Tyr Pro Arg Lys Gly Arg
 385 390 395 400
 Val Ala Val Gly Ser Asp Ala Asp Leu Val Ile Trp Asn Pro Lys Ala
 405 410 415
 Thr Lys Ile Ile Ser Ala Lys Thr His Asn Leu Asn Val Glu Tyr Asn
 420 425 430
 Ile Phe Glu Gly Val Glu Cys Arg Gly Ala Pro Ala Val Val Ile Ser
 435 440 445
 Gln Gly Arg Val Ala Leu Glu Asp Gly Lys Met Phe Val Thr Pro Gly
 450 455 460
 Ala Gly Arg Phe Val Pro Arg Lys Thr Phe Pro Asp Phe Val Tyr Lys
 465 470 475 480
 Arg Ile Lys Ala Arg Asn Arg Leu Ala Glu Ile His Gly Val Pro Arg
 485 490 495
 Gly Leu Tyr Asp Gly Pro Val His Glu Val Met Val Pro Ala Lys Pro
 500 505 510
 Gly Ser Gly Ala Pro Ala Arg Ala Ser Cys Pro Gly Lys Ile Ser Val
 515 520 525
 Pro Pro Val Arg Asn Leu His Gln Ser Gly Phe Ser Leu Ser Gly Ser
 530 535 540
 Gln Ala Asp Asp His Ile Ala Arg Arg Thr Ala Gln Lys Ile Met Ala
 545 550 555 560
 Pro Pro Gly Gly Arg Ser Asn Ile Thr Ser Leu Ser
 565 570

REVENDEICATIONS

- 5 1. Polypeptide purifié, dérivé ou fragment polypeptidique
dudit polypeptide purifié biologiquement actif, comprenant une séquence
d'acides aminés choisie parmi SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 et n° 8.
2. Polypeptide purifié, dérivé ou fragment polypeptidique
biologiquement actif dudit polypeptide purifié, selon la revendication 1
10 comprenant la séquence d'acides aminés SEQ ID n° 8, ledit polypeptide
étant désigné par « POP-66 ».
3. Séquence nucléotidique isolée, comprenant :
- une séquence choisie parmi SEQ ID n° 1, n° 3, n° 5 et n° 7
codant pour un polypeptide de séquence d'acides aminés
15 respectivement SEQ ID n° 2, n° 4, n° 6 et n° 8 ;
- ou une séquence dérivée d'une séquence choisie parmi
SEQ ID n° 1, n° 3, n° 5 et n° 7 du fait de la dégénérescence du code
génétique.
4. Séquence nucléotidique selon la revendication 3,
20 comprenant la séquence nucléique SEQ ID n° 7 codant pour un
polypeptide selon la revendication 2.
5. Vecteur de clonage et/ou d'expression contenant une
séquence d'acides nucléiques selon l'une des revendications 3 et 4.
6. Cellule hôte transfectée par un vecteur selon la
25 revendication 5.
7. Anticorps mono- ou polyclonaux obtenus à partir d'un
polypeptide selon l'une des revendications 1 et 2, purifié, dérivé ou

fragment polypeptidique biologiquement actif dudit polypeptide purifié, ainsi que les fragments, les anticorps chimériques ou les immunoconjugués desdits anticorps mono- ou polyclonaux.

8. Composition utile pour le diagnostic des syndromes
5 neurologiques paranéoplasiques et/ou pour le diagnostic précoce de la formation des tumeurs, caractérisée en ce qu'elle comprend un polypeptide purifié POP-66, dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66 selon la revendication 2.

9. Utilisation d'un polypeptide purifié POP 66, dérivé ou
10 fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66 selon la revendication 2 ou d'une séquence nucléotidique selon la revendication 4 pour détecter la présence d'anticorps anti-CV2 dans un échantillon biologique.

10. Utilisation d'anticorps mono- ou polyclonaux ou leurs
15 fragments, anticorps chimériques ou immunoconjugués selon la revendication 7, pour la purification ou la détection d'une protéine ULIP correspondante dans un échantillon biologique.

11. Utilisation d'anticorps dirigés contre une protéine de la
famille ULIP pour la mise en évidence d'une protéine ULIP dans des
20 néoplasmes et les syndromes neurologiques paranéoplasiques, à des fins de diagnostic.

12. Utilisation selon la revendication 11, les anticorps étant
des anticorps monoclonaux obtenus à partir du sérum polyclonal anti-CV2
de patients.

13. Méthode pour le diagnostic des syndromes
25 neurologiques paranéoplasiques et/ou pour le diagnostic précoce de la formation des tumeurs cancéreuses, caractérisée en ce que l'on met en

évidence dans un échantillon de sang prélevé chez un individu des auto-anticorps dirigés contre une protéine POP-66 par

- la mise en contact un échantillon de sang prélevé chez un individu avec un polypeptide purifié (POP-66), dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66 selon la revendication 2, éventuellement fixé sur un support dans des conditions permettant la formation de complexes immunologiques spécifiques entre ledit polypeptide et les auto-anticorps éventuellement présents dans l'échantillon de sang, et
- la détection des complexes immunologiques spécifiques éventuellement formés.

14. Kit pour le diagnostic des syndromes neurologiques paranéoplasiques et pour le diagnostic précoce de la formation des tumeurs à partir d'un prélèvement biologique comprenant :

- au moins un polypeptide purifié POP-66, dérivé ou fragment polypeptidique biologiquement actif de POP-66, selon la revendication 2 éventuellement fixé sur un support,
- des moyens de révélation de la formation de complexes antigène/anticorps spécifiques entre un auto-anticorps anti-POP-66 et ledit polypeptide purifié POP-66, dérivé ou fragment polypeptidique et/ou des moyens de quantification de ces complexes.

15. Composition pharmaceutique, comprenant au moins une protéine purifiée de la famille ULIP, fragment polypeptidique ou dérivé biologiquement actif de celle-ci, une séquence ou fragment de séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, une séquence anti-sens capable de s'hybrider spécifiquement avec une séquence nucléotidique

codant pour ladite protéine, ou un anticorps dirigé contre ladite protéine, associée à un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

16. Composition pharmaceutique selon la revendication 15, comprenant au moins un polypeptide purifié POP-66 selon la revendication 2, fragment polypeptidique ou dérivé biologiquement actif de celui-ci, une séquence ou fragment de séquence nucléotidique codant pour ledit polypeptide, une séquence anti-sens capable de s'hybrider spécifiquement avec une séquence nucléotidique codant pour ledit polypeptide, ou un anticorps dirigé contre ledit polypeptide, associé à un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

17) Utilisation d'une protéine purifiée de la famille ULIP, fragment polypeptidique ou dérivé biologiquement actif de celle-ci, une séquence ou fragment de séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, une séquence anti-sens capable de s'hybrider spécifiquement avec une séquence nucléotidique codant pour ladite protéine, ou un anticorps dirigé contre ladite protéine, pour la fabrication d'un médicament destiné à traiter les maladies neurodégénératives et les néoplasmes.

échelle de
poids
moléculaire

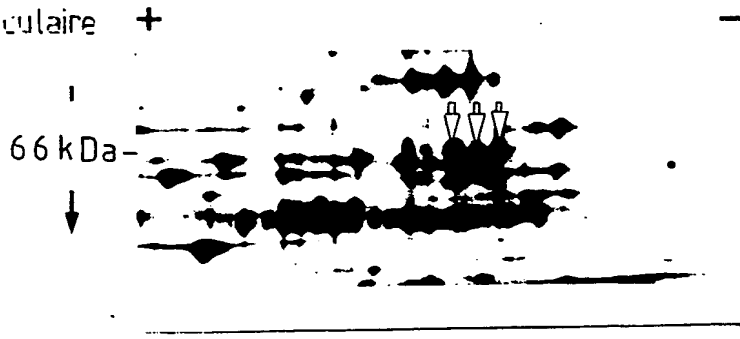


FIG. 1A

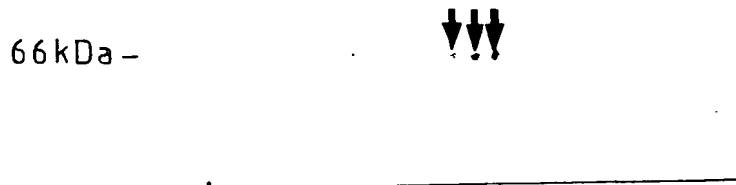


FIG. 1B

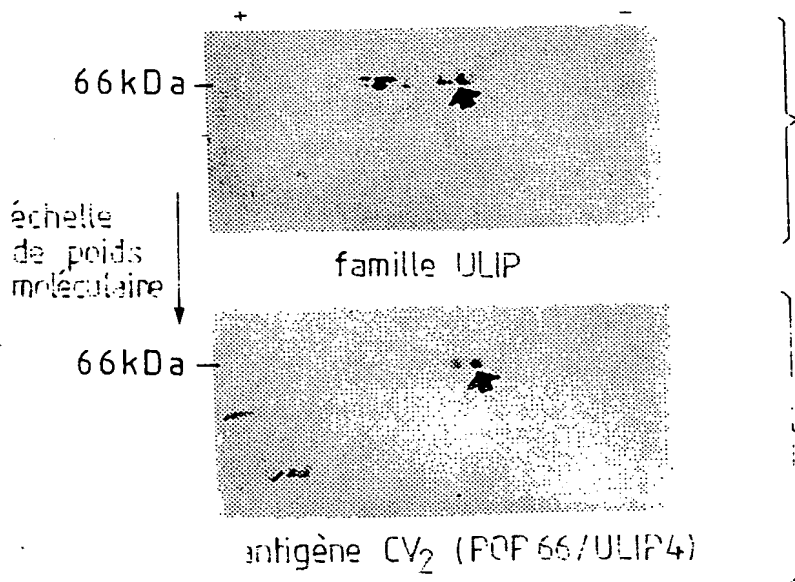


FIG. 2A

FIG. 2B

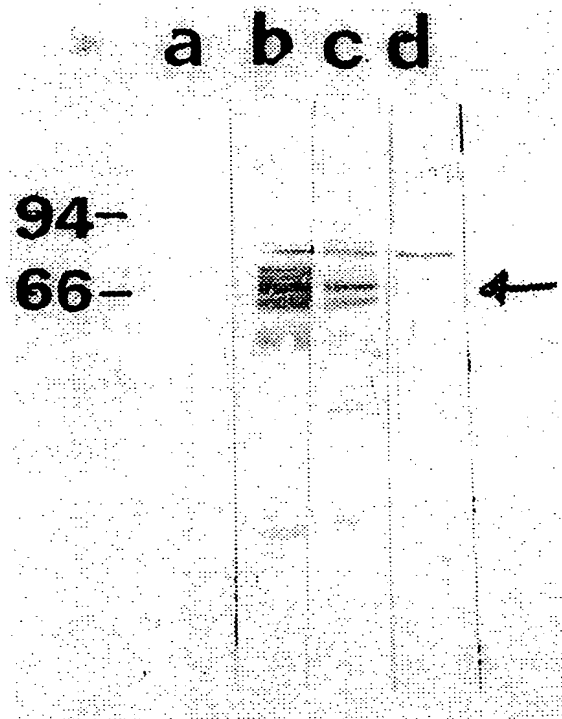


FIG. 3

3/24

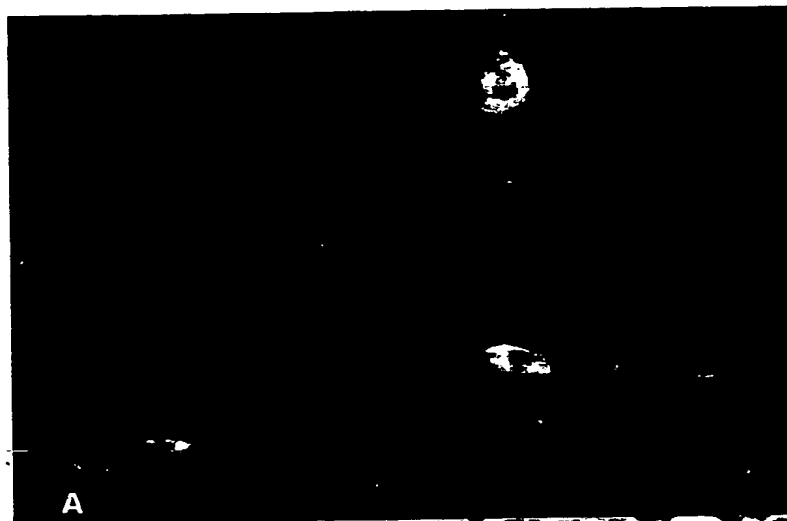


FIG. 4A



FIG. 4B



FIG. 4C



FIG. 5A

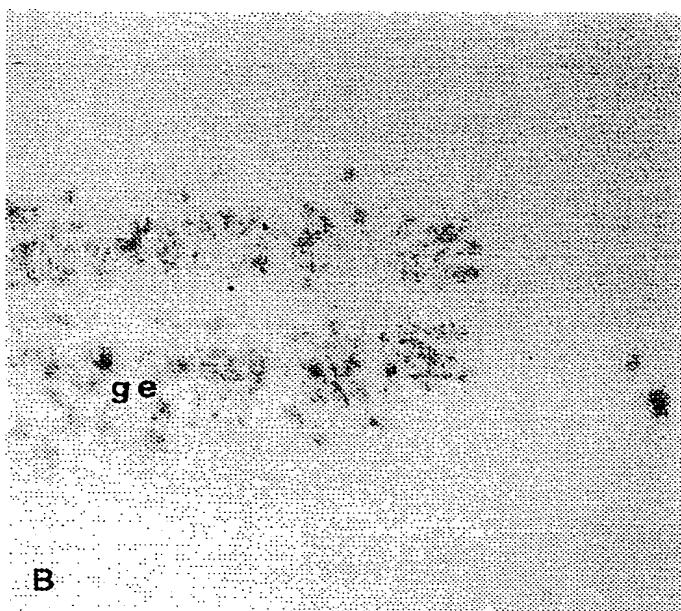


FIG. 5B

5/24

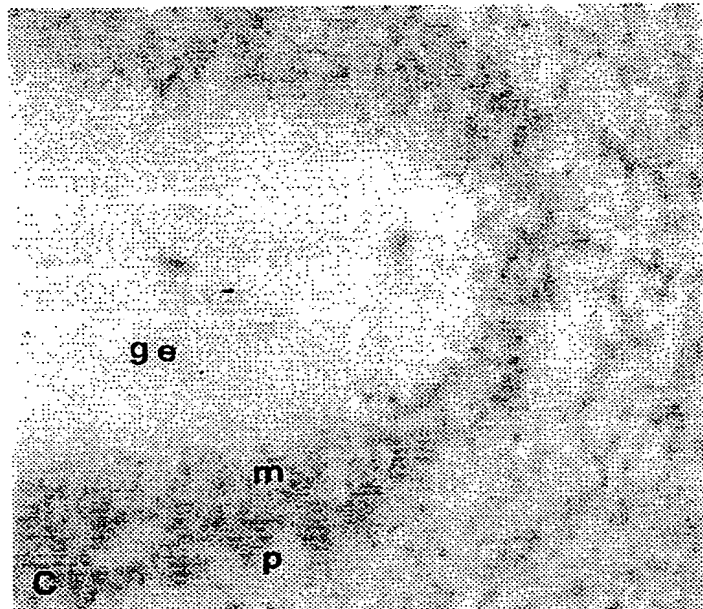


FIG. 5C

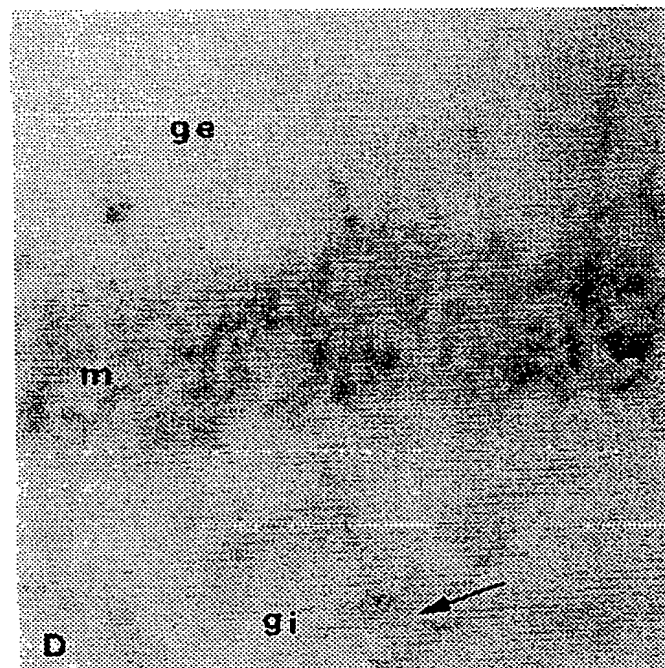


FIG. 5D

6/24

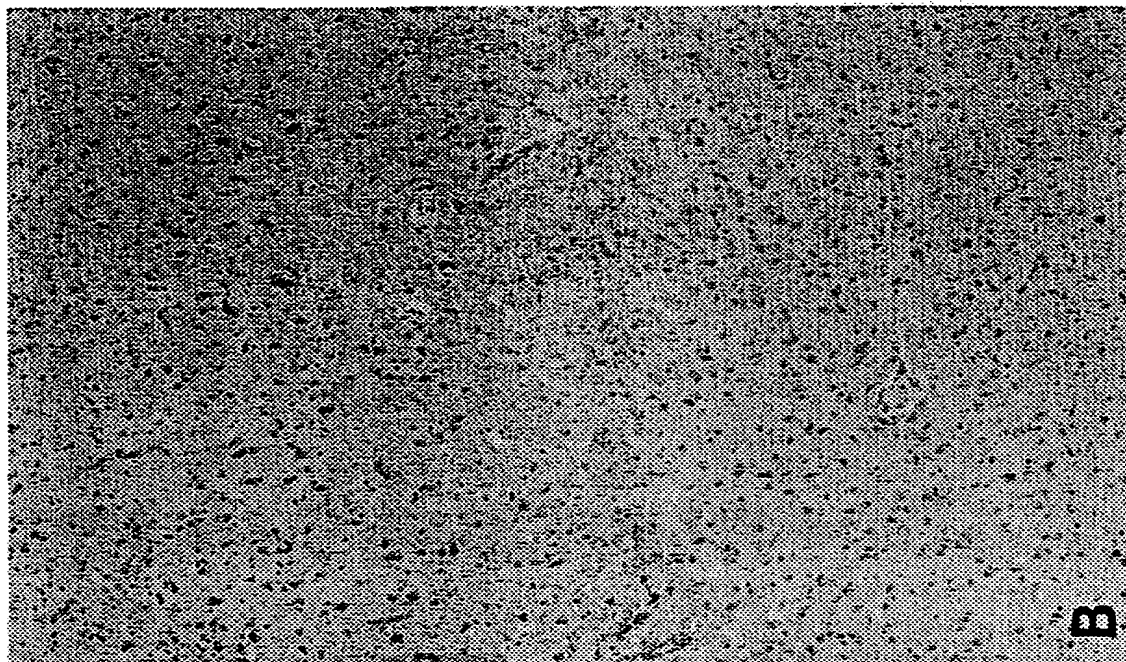


FIG. 6B

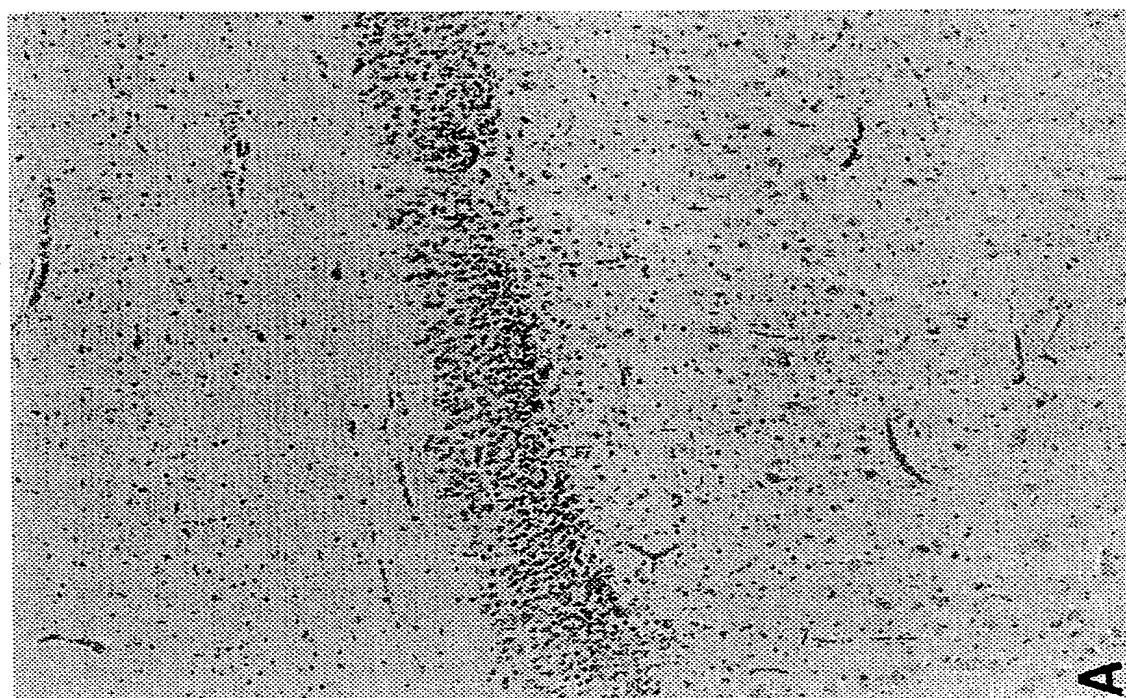


FIG. 6A

7 / 24

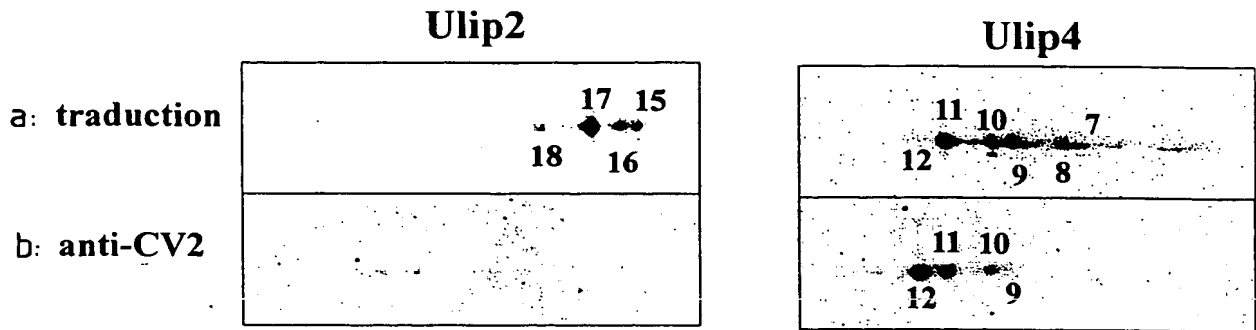


FIG. 7A

FIG. 7B

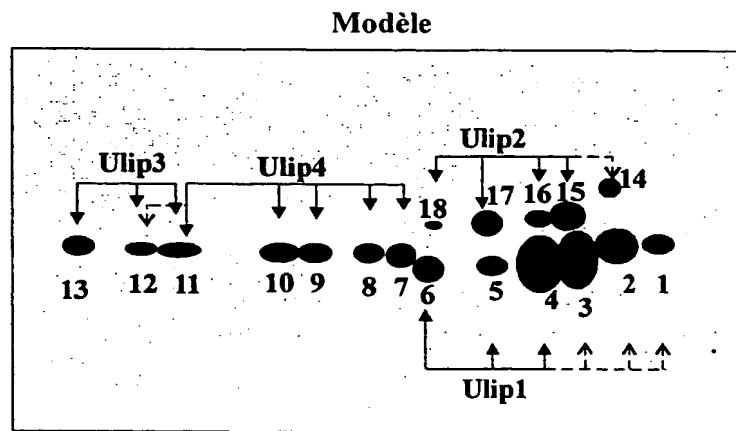


FIG. 7C

8/24

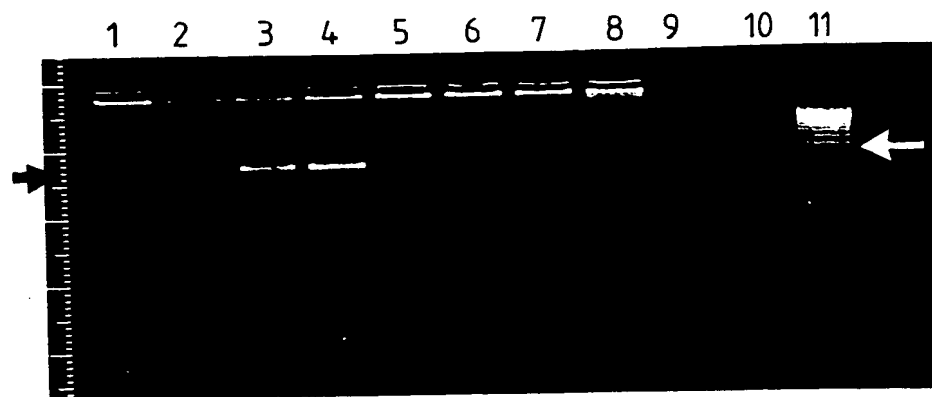


FIG. 8A

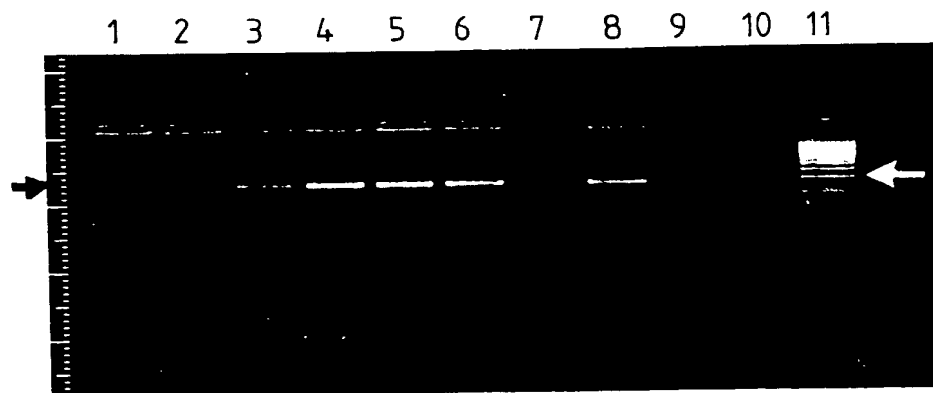


FIG. 8B

ulip2 source

cttctccccccccggag	ATG	TCT	TAT	CAG	GGG	AAG	AAA	AAT	ATT	CCA	CCC	ATC	12
													58
T S D R L L I K G G K I V N D D Q S													30
ACG AGC GAT CGT CTT CTG ATC AAA GGT GGC AAG ATT GTG AAT GAT GAC CAG TCC													112
F Y A D I Y M E D G L I K Q I G E N													48
TTC TAT GCA GAC ATA TAC ATG GAA GAT GGG TTG ATC AAG CAA ATA GGA GAA AAC													166
L I V P G G V K T I E A H S R M V I													66
CTG ATT GTA CCA GGA GGG GTG AAG ACC ATC GAA GCC CAC TCC AGA ATG GTG ATT													220
P G G I D V H T R F Q M P D Q G M T													84
CCC GGA GGA ATT GAC GTG CAT ACT CGC TTC CAG ATG CCT GAC CAG GGA ATG ACA													274
S A D D F F Q G T K A A L A G G T T													102
TCC GCT GAT GAC TTC TTC CAG GGA ACC AAG GCG GCC CTG GCC GGA ACC ACC													328
M I I D H V V P E P G T S L L A A F													120
ATG ATC ATT GAC CAT GTT GTT CCT GAG CCC GGG ACG AGC CTA TTG GCT GCC TTT													382
D Q W R E W A D S K S C C D Y S L H													138
GAT CAG TGG AGG GAG TGG GCT GAC AGC AAG TCC TGC TGT GAC TAT TCG CTG CAC													436
V D I T E W H K G I Q E E M E A L V													156
GTG GAC ATC ACT GAG TGG CAC AAG GGC ATC CAG GAG GAG ATG GAA GCT CTG GTG													490

9/24

FIG. 9

10/24

K	D	H	G	G	V	N	S	F	L	V	Y	M	A	F	K	D	R	F	174
AAG	GAC	CAC	GGG	GTA	AAC	TCC	TTC	TTC	CTC	GTG	TAC	ATG	GCT	TTC	AAA	GAT	CGA	TTC	544
Q	L	T	D	S	Q	I	Y	E	V	V	L	S	V	I	R	D	I	G	192
CAG	CTG	ACG	GAT	TCC	CAG	ATC	TAT	GAA	GTG	GAA	CTG	AGC	GTG	ATC	CGG	GAT	ATC	GGT	598
A	I	A	Q	V	H	A	E	N	G	G	D	I	I	A	E	A	Q	Q	210
GCC	ATA	GCT	CAA	GTC	CAC	GCA	GAG	AAT	GGT	GAC	ATC	ATT	GCT	GAG	GCA	CAG	CAG	CAG	652
R	I	L	D	L	G	I	T	G	P	E	G	H	V	L	S	R	P	P	228
AGG	ATC	CTG	GAT	CTG	GGC	ATC	ACG	GGC	CCC	GAG	GGA	CAC	GTG	TTG	AGC	CGG	CCA	CCA	706
E	E	V	E	A	E	A	V	N	R	S	I	T	I	A	N	Q	T	T	246
GAG	GAG	GTC	GAG	GCT	GAA	GCT	GTG	AAC	CGG	TCC	ATC	ACT	ATT	GCC	AAC	CAG	ACC	ACC	760
N	C	P	L	Y	V	T	K	V	M	P	K	S	A	A	E	V	I	I	264
AAC	TGC	CCT	CTG	TAT	GTC	ACC	AAA	GTG	ATG	CCC	AAG	AGT	GCG	GCT	GAA	GTC	ATC	ATC	814
A	Q	A	R	K	K	G	T	V	V	Y	G	E	P	I	T	A	S	S	282
GCT	CAG	GCA	CGG	AAG	AAG	GGA	ACT	GTG	GTG	TAT	GGT	GAG	CCC	ATC	ACG	GCC	AGC	AGC	868
L	G	T	D	G	S	H	Y	W	S	K	N	W	A	K	A	A	A	A	300
CTG	GGG	ACT	GAT	GGC	TCT	CAT	TAC	TGG	AGC	AAG	AAC	TGG	GCC	AAG	GCT	GCG	GCC	GCC	922
F	V	T	S	P	P	L	S	P	D	P	T	T	P	D	F	L	N	N	318
TTT	GTC	ACC	TCC	CCA	CCC	TTG	AGC	CCC	GAC	CCA	ACC	ACT	CCA	GAC	TTT	CTC	AAC	AAC	976
S	L	L	S	C	G	D	L	Q	V	T	G	S	A	H	C	T	F	F	336
TCC	TTG	CTG	TCC	TGT	GGA	GAC	CTC	CAA	GTC	ACT	GGC	AGT	GCC	CAC	TGC	ACC	TTC	TTC	1030

FIG. 9 suite

N	T	A	Q	K	A	V	G	K	D	N	F	T	L	I	P	E	G	354
AAC	ACT	GCC	CAG	AAG	GCT	GTG	GGG	AAG	GAC	AAC	TTC	ACC	TTG	ATT	CCC	GAG	GGC	1084
T	N	G	T	E	E	R	M	S	V	I	W	D	K	A	V	V	T	372
ACC	AAC	GGC	ACT	GAG	GAG	CGG	ATG	TCT	GTC	ATT	TGG	GAT	AAA	GCT	GTG	GTC	ACT	1138
G	K	M	D	E	N	Q	F	V	A	V	T	S	T	N	A	A	K	390
GGG	AAG	ATG	GAT	GAG	AAT	CAG	TTT	GTG	GCT	GTG	ACC	AGC	ACC	AAC	GCA	GCC	AAA	1192
V	F	N	L	Y	P	R	K	G	R	I	S	V	G	S	D	A	D	408
GTC	TTC	AAC	CTT	TAC	CCC	CGG	AAA	GGT	CGC	ATC	TCG	GTG	GGA	TCT	GAT	GCT	GAC	1246
L	V	I	W	D	P	D	S	V	K	T	I	S	A	K	T	H	N	426
TTG	GTC	ATC	TGG	GAC	CCT	GAC	AGT	GTG	AAG	ACC	ATC	TCT	GCC	AAG	ACA	CAC	AAC	1300
S	A	L	E	Y	N	I	F	E	G	M	E	C	R	G	S	P	L	444
AGT	GCT	CTT	GAG	TAC	AAC	ATC	TTT	GAA	GGC	ATG	GAG	TGT	CGC	GGC	TCC	CCA	CTG	1354
V	V	I	S	Q	G	K	I	V	L	E	D	G	T	L	H	V	T	462
GTG	GTC	ATC	AGC	CAG	GGC	AAG	ATT	GTC	CTG	GAG	GAC	GGC	ACA	CTT	CAT	GTC	ACT	1408
E	G	S	G	R	Y	I	P	R	K	P	F	P	D	F	V	Y	K	480
GAA	GGC	TCA	GGA	CGC	TAC	ATT	CCC	CGG	AAG	CCC	TTC	CCT	GAC	TTT	GTG	TAC	AAA	1462
R	I	K	A	R	S	R	L	A	E	L	R	G	V	P	R	G	L	498
CGC	ATC	AAA	GCA	AGG	AGC	AGG	CTG	GCT	GAG	CTG	AGA	GGG	GTC	CCT	CGT	GGC	CTG	1516
Y	D	G	P	V	C	E	V	S	V	T	P	K	T	V	T	P	A	516
TAT	GAC	GGA	CCG	GTA	TGC	GAG	GTG	TCT	GTG	ACG	CCC	AAG	ACG	GTG	ACT	CCA	GCC	1570

FIG.9suite

12/24

S S A K T S P A K Q Q A P P V R N L 534
TCA TCA GCT AAG ACA TCC CCT GCC AAG CAG CAG CCA CCT GTT CGG AAC CTG 1624

H Q S G F S L S G A Q I D D N I P R 552
CAC CAG TCT GGA TTC AGC TTG TCT GGT GGT GCT CAG ATT GAC GAC AAC ATT CCC CGC 1678

R T T Q R I V A P P G G R A N I T S 570
CGC ACC ACC CAG CGC ATC GTG GCA CCC CCT GGT GGT GGC CGT GCC AAC ATC ACC AGC 1732

L G * 573
CTG GGC TAA agcccctaggcctgcaggccacttggggatggggatgggacacctgaggacattctga 1800

gacttcctttcttccat

FIG. 9 suite

Ulip3 souris

[illegible]

FIG. 10

S C C D Y S L H V D I T S W Y D G V 148
 TCC TGC TGT GAC TAT TCC CTC CAC GTG GAC ATC ACA AGC TGG TAT GAT GGT GTT 713

 R E E L E V L V Q D K G V N S F Q V 166
 CGG GAA GAG CTG GAG GTG CTG GTG CAG GAC AAA GGT GTC AAC TCC TTC CAA GTC 767

 Y M A Y K D L Y Q M S D S Q L Y E A 184
 TAC ATG GCG TAT AAG GAC CTG TAC CAG ATG TCT GAC AGC CAG CTG TAT GAA GCC 821

 F T F L K G L G A V I L V H A E N G 202
 TTC ACC TTC CTT AAG GGT TTG GGA GCT GTG ATC TTA GTC CAT GCA GAA AAT GGA 875

 D L I A Q E Q K R I L E M G I T G P 220
 GAT TTG ATA GCT CAG GAA CAA AAA CGG ATC CTG GAG ATG GGC ATC ACG GGT CCC 929

 E G H A L S R P E E L E A A V F R 238
 GAG GGT CAT GCT CTG AGC AGA CCC GAG GAG CTG GAG GCC GAG GCT GTG TTC CGG 983

 A I A I A G R I N C P V Y I T K V M 256
 GCT ATT GCC ATT GCA GGC CGG ATC AAT TGC CCT GTG TAC ATC ACC AAG GTC ATG 1037

 S K S A A D I I A L A R K K G P L V 274
 AGC AAG AGT GCA GCG GAC ATC ATC GCA CTG GCC AGG AAG AAA GGC CCT CTT GTC 1091

 F G E P I A A S L G T D G T H Y W S 292
 TTC GGT GAG CCC ATA GCC GCC AGC CTG GGA ACC GAT GGC ACC CAC TAC TGG AGC 1145

 K N W A K A A A F V T S P P L S P D 310
 AAG AAC TGG GCC AAG GCA GCT GCA TTT GTG ACT TCC CCT CCC CTG AGC CCA GAC 1199

14/24

FIG.10suite

P T T P D Y L L T S L L A C G D L Q V 328
 CCC ACC ACT CCT GAC TAC TTG ACC TCC TTG CTG GCC TGT GGA GAC TTG CAG GTC 1253

 T G S G H C P Y S I A Q K A V G K D 346
 ACA GGT AGT GGC CAC TGT CCC TAC AGT ATT GCT CAG AAG GCT GTG GGC AAG GAC 1307

 N F T L I P E G V N G I E E R M T V 364
 AAC TTC ACT CTG ATC CCT GAG GGT GTC AAT GGT ATA GAA GAG CCG ATG ACC GTT 1361

 V W D K A V A T G K M D E N Q F V A 382
 GTC TGG GAC AAG GCA GTG GCT ACT GGC AAG ATG GAT GAG AAC CAG TTT GTA GCC 1415

 V T S T N A A A K I F N L Y P R K G R 400
 GTC ACC AGC ACC AAC GCA GCC AAG ATC TTC AAC CTG TAC CCG AGG AAA GGT CGG 1469

 I A V G S D A D V V I W D P D K M K 418
 ATC GCT GTG GGC TCC GAT GCT GAC GTA GTC ATC TGG GAC CCA GAT AAG ATG AAG 1523

 T I T A K S H K S T V E Y N I F E G 436
 ACC ATA ACA GCC AAA AGC CAT AAA TCA ACT GTG GAG TAC AAC ATC TTT GAG GGC 1577

 M E C H G S P L V V I S Q G K I V F 454
 ATG GAG TGC CAC GGC TCC CCC CTG GTG GTC ATC AGT CAG GGC AAG ATT GTC TTT 1631

 E D G N I S' V S K G M G R F I P R K 472
 GAG GAT GGA AAC ATC AGT GTC AGC AAG GGC ATG GGC CGC TTC ATC CCT CGG AAG 1685

 P F P E H L Y Q R V R I R S K V F G 490
 CCA TTC CCA GAG CAT CTC TAC CAG CGT GTC AGG ATC AGA AGC AAG GTT TTC GGG 1739

FIG.10 suite

```

L   H   S   V   S   R   G   M   Y   D   G   P   V   Y   E   V   P   A   508
TTG CAT AGT GTT TCC AGG GGC ATG TAC GAT GGG CCT GTG TAC GAG GTG CCA GCT 1793

T   P   K   H   A   A   A   P   A   P   S   A   E   S   S   P   S   K   H   526
ACA CCC AAA CAT GCT GCT CCT GCT CCT TCT TCT GCG CCT TCT AAA CAC 1847

Q   P   P   P   I   R   N   L   H   Q   S   N   F   S   L   S   G   A   544
CAA CCC CCA CCC ATC CGG AAC CTC CAC CAG TCC AAC TTC AGC TTA TCA GGT GCC 1901

Q   I   D   D   N   N   P   R   R   T   G   H   R   I   V   A   P   P   562
CAG ATA GAT GAC AAC AAT CCA AGG CGT ACA GGC CAC CGC ATT GTG GCG CCC CCT 1955

G   G   R   S   N   I   T   S   L   G   *   573
GGT GGC CGC TCC AAC ATC ACC AGC CTC GGT TGA cctcagatgagccagatatgcaagagt 2015

gaaggattatgggaaaacgtccattcctttccgtgttttgaagccacagtttagttggtactgacgga 2087

ggggagattgagcgatgctcttccctctctgttttaggaagaagtggtagtggtgtgttgcctgga 2159

agtcctcgcgccacagtgtgttccacaccgactccacctcagagcatggtgccgtccgttttcccttccta 2231

gtgaccccggttagcatcgtcctatactgttccctccactcctccatgacccctctgagtgtgg 2297

```

FIG.10 suite

Ulip4 souris

gctgactaatatgcttaaatcagcgggtcgccacgtctggtcggtacgtccacgcccgcgcagcccctacc 72

gaggacactcagcccgccgtgtatcagg'ATG TCC TTC CAA GGC AAG AAG AGC ATT CCC 10 131

R I T S D R L L I K G G K I V N D D 28

CGG ATA ACG AGC GAC CGC CTT CTC ATC AAA GGT GGG AAG ATT GTG AAC GAT GAC 185

Q S F H A D L Y V E D G L I K Q I G 46

CAG TCC TTT CAT GCT GAT CTG TAT GTG GAA GAC GGT CTG ATT AAA CAA ATT GGA 239

E N L I V P G G I K T I D A H G L M 64

GAA AAT CTC ATC GTC CCT CCT GGG GGC ATC AAA ACC ATC GAT GCT CAT GGC CTG ATG 293

V L P G G V D V H T R L Q M P V M G 82

GTG CTG CCT GGG GGA GTT GAC GTT CAC ACC CGG CTG CAG ATG CCT GTG ATG GGC 347

M T P A D D F C Q G T K A A L A G G 100

ATG ACC CCA GCT GAT GAT TTC TGT CAG GGC ACC AAG GCG GCT CTA GCA GGC GGG 401

T T M I L D H V F P D A G V S L L A 118

ACC ACC ATG ATA TTG GAC CAT GTG TTT CCT GAC GCT GGT GTG AGC CTG CTG GCA 455

A Y E Q W R D G A D S A A C C D Y S 136

GCC TAT GAG CAG TGG CGG GAC GGA GCA GAC AGC GCG GCC TGC TGT GAC TAC TCC 509

L H V D I P R R W H E S T K E L E A 154

TTA CAT GTG GAC ATT CCT CGC TGG CAC GAG AGC ACC AAA GAA GAG CTG GAG GCC 563

17/24

FIG.11

L	V	R	D	K	G	V	N	S	F	L	V	F	M	A	Y	K	D	172
CTA	GTC	AGG	GAC	AAA	GGT	GTG	AAC	TCC	TTC	CTG	GTC	TTC	ATG	GCA	TAC	AAG	GAC	617
R	C	Q	C	T	D	G	Q	I	Y	E	I	F	S	L	I	R	D	190
AGG	TGC	CAG	TGT	ACT	GAC	GGT	CAG	ATA	TAT	GAA	ATC	TTC	AGC	CTC	ATC	CGG	GAC	671
L	G	A	V	A	Q	V	H	A	E	N	G	D	I	V	E	E	E	208
CTG	GGA	GCT	GTG	GCC	CAG	GTG	CAC	GCA	GAA	AAT	GGG	GAC	ATC	GTG	GAG	GAG	GAA	725
Q	K	R	L	L	E	Q	G	I	T	G	P	E	G	H	V	L	S	226
CAG	AAG	CGC	CTG	CTG	GAG	CAA	GGC	ATC	ACT	GGT	CCT	GAG	GGC	CAT	GTG	CTC	AGC	779
H	P	E	E	V	E	A	E	A	V	Y	R	A	V	T	I	A	K	244
CAC	CCA	GAA	GAG	GTA	GAG	GCC	GAG	GCT	GTG	TAC	AGA	GCA	GTC	ACC	ATT	GCC	AAG	833
Q	A	N	C	P	L	Y	V	T	K	V	M	S	K	G	A	A	D	262
CAG	GCC	AAC	TGC	CCA	CTA	TAC	GTC	ACC	AAG	GTG	ATG	AGC	AAG	GGT	GCA	GCT	GAC	887
M	V	A	Q	A	K	R	R	G	V	V	V	F	G	E	P	I	T	280
ATG	GTT	GCC	CAA	GCC	AAG	CGC	AGG	GGG	GTG	GTC	GTC	TTT	GGG	GAA	CCT	ATC	ACT	941
A	S	L	G	T	D	G	S	H	Y	W	S	K	N	W	A	K	A	298
GCC	AGC	CTG	GGC	ACT	GAT	GAT	GGC	TCA	CAC	TAC	TGG	AGC	AAG	AAC	TGG	GCC	AAG	995
A	A	F	V	T	S	P	P	I	N	P	D	P	T	T	A	D	H	316
GCA	GCC	TTT	GTC	ACT	TCA	CCC	CCT	ATC	AAC	CCG	GAC	CCT	ACT	ACT	GCA	GAC	CAC	1049
L	T	S	L	L	S	S	G	D	L	Q	V	T	G	S	A	H	C	334
CTC	ACC	TCT	CTG	CTG	TCC	AGT	GGG	GAC	CTC	CAG	GTG	ACA	GGC	AGT	GCC	CAC	TGC	1103

FIG.11 suite

T	F	T	T	A	Q	K	A	V	G	K	D	N	F	T	L	I	P	352
ACC	TTC	ACT	ACT	GCC	CAG	AAG	GCT	GTT	GGC	AAA	GAC	AAC	TTC	ACA	CTG	ATC	CCC	1157
E	V	V	N	G	I	E	E	R	M	S	V	V	W	E	K	C	V	370
GAG	GTA	GTC	AAC	GGT	ATA	GAA	GAG	CGC	ATG	TCT	GTG	GTC	TGG	GAG	AAA	TGT	GTG	1211
A	S	G	K	M	D	E	N	E	F	V	A	V	T	S	T	N	A	388
GCT	TCA	GGG	AAA	ATG	GAC	GAG	AAT	GAG	TTC	GTT	GCC	GTG	ACC	AGC	ACA	AAT	GCT	1265
A	K	I	F	N	F	Y	P	R	K	G	R	V	A	V	G	S	D	406
GCC	AAA	ATC	TTC	AAT	TTT	TAC	CCC	AGG	AAG	GGG	CGT	GTG	GCC	GTG	GGC	TCT	GAT	1319
A	D	L	V	I	W	N	P	R	A	T	K	V	I	S	A	K	S	424
GCT	GAC	CTG	GTC	ATC	TGG	AAC	CCC	AGG	GCC	ACG	AAA	GTC	ATC	TCT	GCC	AAG	AGC	1373
H	N	L	N	V	E	Y	N	I	F	E	G	V	E	C	R	G	V	442
CAT	AAC	CTG	AAT	GTA	GAG	TAC	AAC	ATC	TTT	GAA	GGA	GTG	GAG	TGC	CGA	GGA	GTG	1427
P	T	V	V	I	S	Q	G	R	V	V	L	E	D	G	N	L	L	460
CCC	ACG	GTG	GTC	ATA	AGT	CAG	GGC	AGA	GTG	GTG	CTG	GAG	GAC	GGA	AAC	CTG	CTT	1481
V	T	P	G	A	G	R	F	I	P	R	K	T	F	P	D	F	V	478
GTC	ACT	CCA	GGG	GCT	GGC	CGC	TTC	ATT	CCC	CGG	AAG	ACG	TTC	CCG	GAC	TTT	GTC	1535
Y	K	R	I	K	A	R	N	R	L	A	E	I	H	G	V	P	R	496
TAT	AAG	AGG	ATA	AAG	GCT	CGC	AAC	AGG	CTA	GCA	GAG	ATC	CAC	GGT	GTG	CCT	CGA	1589

FIG.11 suite

G L Y D G G G C C T G T G C A T G A A G T G A T G M L P A K P G S 514
 GGC CTG TAC GAC GAC GGG CCT GTG CAT GAA GTG ATG TTA CCT GCC AAG CCA GGA AGT 1643

 G T Q A R A S C S G G K I S V P P V R 532
 GGC ACA CAG GCC CGT GCA TCC TGT TCA GGC AAG ATC TCA GTG CCA CCC GTG CGC 1697

 N L H Q S G F S L S G S Q A D D H I 550
 AAC CTG CAC CAG TCG GGG TTC AGC CTA TCT GGC TCT CAG GCT GAC GAT CAC ATT 1751

 A R R T A Q K I M A P P G G R S N I 568
 GCC AGA CGT ACG GCT CAG AAG ATC ATG GCA CCC CCC GGA GGA CGC TCC AAC ATC 1805

 T S L S * 573
 ACG TCT CTT TCC TAG acttggggtcttggcaagctggtgctgtgtccactggcagggtgtggtggac 1871

 gactcacgtcagttagctccttcctttagattgttattgtgaaaggg 1920

FIG.11 suite

Ulip4 homme

GCCGCCCTACCAGAGACCCCGAGCAGG	ATG	TCC	TTC	CAG	GGC	AAG	AAA	AGC	ATC	CCC	10
											61
R I T S D R L L I R G G R I V N D D											28
CGG ATC ACG AGT GAC CGC CTT CTG ATC AGA GGT GGG AGG ATC GTG AAT GAC GAC											115
Q S F Y A D V H V E D G L I K Q I G											46
CAG TCC TTT TAC GCT GAT GTG CAC GTG GAA GAT GGC TTG ATA AAA CAA ATC GGA											169
E N L I V P G G I * T I D A H G L M											64
GAA AAC CTC ATC GTC CCT GGC GGC ATC TAG ACC ATT GAC GCC CAC GGC CTG ATG											223
V L P G G V D V H T R L Q M P V L G											82
GTC CTT CCT GGT GGC GTT GAC GTC CAC ACA AGG CTG CAG ATG CCT GTC CTG GGC											277
M T P A D D F C Q G T K A A L A G G											100
ATG ACA CCG GCT GAC GAC TTC TGT CAG GGC ACC AAG GCA GCG CTA GCA GGA GGA											331
T T M I L D H V F P D T G V S L L A											118
ACC ACC ATG ATC TTG GAC CAC GTC TTC CCC GAC ACG GGT GTG AGC CTG CTG GCG											385
A Y E Q W R E R A D S A A C C D Y S											136
GCC TAC GAG CAG TGG CGG GAG CCG GCG GAC AGC GCG GCC TGC TGC TAC TCC											439
L H V D I T R W H E S I K E E L E A											154
CTG CAC GTG GAC ATC ACC CGA TGG CAT GAG AGC ATC AAG GAG GAG CTG GAG GCC											493

21/24

FIG.12

L V K E K G V N S F L V F M A Y K D	172
CTG GTC AAG GAG AAG GGT GTG AAC TTC TCC TTC TAC GAG ATC GCA TAC AAG GAC	547
R C Q C S D S Q M Y E I F S I I R D	190
CGG TGC CAG TGC AGC GAC AGC CAG ATG TAC GAG ATC TTC AGC ATC ATC CGG GAC	601
L G A L A Q V H A E N G D I V E E E	208
CTG GGG GCC TTG GCC CAG GTG CAC GCT GAG AAC GGG GAC ATC GTG GAG GAG GAG	655
Q K R L L E L G I T G P E G H V L S	226
CAG AAG CGG TTG CTG GAG CTC GGC ATC ACT GGC CCC GAG GGC CAC GTG CTC AGC	709
H P E E V E A E A V Y R A V T I A K	244
CAC CCC GAG GAG GTG GAG GCT GAG GCG GTG TAC CGA GCT GTC ACC ATC GCC AAG	763
Q A N C P L Y V T K V M S K G A A D	262
CAG GCA AAC TGC CCG CTG TAC GTG AAG GTG ATG AGC AAG GGG GCG GCC GAC	817
A I A Q A K R R G V V V V F G E P I T	280
GCC ATC GCT CAG GCC AAG CGC AGA GGG GTG GTG TTT GGG GAG CCC ATC ACC	871
A S L G T D G S H Y W S K N W A K A	298
GCC AGC CTG GGC ACC GAC GGT TCA CAC TAC TGG AGC AAG AAC TGG GCC AAG GCT	925
A A F V T S P P V N P D P T T A D H	316
GCA GCC TTC GTC ACA TCA CCC CCT GTC AAC CCA GAC CCC ACC ACG GCA GAC CAC	979
L T C L L S S G D L Q V T G S A H C	334
CTC ACC TGC TTG CTG TCC TCC AGC GGG GAC CTC CAG GTG ACA GGC AGC GCC CAC TGC	1033

FIG.12 suite

T	F	T	T	A	Q	K	A	V	G	K	D	N	F	A	L	I	P	352
ACC	TTC	ACC	ACT	GCC	CAG	AAG	GCT	GTG	GGC	AAG	GAC	AAC	TTC	GCG	CTG	ATC	CCC	1087
E	G	T	N	G	I	E	E	R	M	S	M	V	W	E	K	C	V	370
GAG	GGC	ACC	AAC	GGC	ATT	GAG	GAG	CGC	ATG	TCG	ATG	GTC	TGG	GAG	AAA	TGT	GTG	1141
A	S	G	K	M	D	E	N	E	F	V	A	V	T	S	T	N	A	388
GCC	TCT	GGG	AAG	ATG	GAC	GAG	AAT	GAG	TTC	GTC	GCG	GTG	ACC	AGT	ACA	AAT	GCT	1195
A	K	I	F	N	F	Y	P	R	K	G	R	V	A	V	G	S	D	406
GCC	AAA	ATC	TTC	AAT	TTT	TAC	CCA	AGG	AAG	GGG	CGA	GTG	GCT	GTG	GGC	TCT	GAC	1249
A	D	L	V	I	W	N	P	K	A	T	K	I	I	S	A	K	T	424
GCT	GAC	CTG	GTC	ATA	TGG	AAC	CCC	AAG	GCC	ACC	AAG	ATC	ATC	TCT	GCC	AAG	ACC	1303
H	N	L	N	V	E	Y	N	I	F	E	G	V	E	C	R	G	A	442
CAC	AAT	CTG	AAC	GTG	GAG	TAC	AAC	ATC	TTC	GAG	GGA	GTG	GAG	TGC	CGG	GGA	GCG	1357
P	A	V	V	I	S	Q	G	R	V	A	L	E	D	G	K	M	F	460
CCT	GCC	GTG	GTC	ATA	AGT	CAG	GGC	CGA	GTG	GCG	CTG	GAG	GAC	GGG	AAG	ATG	TTT	1411
V	T	P	G	A	G	R	F	V	P	R	K	T	F	P	D	F	V	478
GTC	ACC	CCG	GGG	GCG	GGC	CGC	TTC	GTC	CCT	CGG	AAA	ACA	TTC	CCG	GAC	TTT	GTC	1465
Y	K	R	I	K	A	R	N	R	L	A	E	I	H	G	V	P	R	496
TAC	AAG	AGG	ATC	AAA	GCT	CGC	AAC	AGG	CTG	GCG	GAG	ATC	CAC	GGT	GTG	CCC	CGT	1519

FIG.12suite

G	L	Y	D	G	P	V	H	E	V	M	V	P	A	K	P	G	S	514
GGG	CTG	TAT	GAC	GGG	CCC	GTC	CAC	GAG	GTG	ATG	GTG	CCT	GCC	AAG	CCA	GGG	AGT	1573
G	A	P	A	R	A	S	C	P	G	K	I	S	V	P	P	V	R	532
GGC	GCT	CCG	GCC	CGC	GCG	TCC	TGC	CCA	GGC	AAG	ATC	TCC	GTG	CCT	CCT	GTG	CGC	1627
N	L	H	Q	S	G	F	S	L	S	G	S	Q	A	D	D	H	I	550
AAC	CTA	CAT	CAG	TCG	GGG	TTC	AGC	CTA	TCT	GGG	TCT	CAG	GCT	GAT	GAC	CAC	ATC	1681
A	R	R																553
GCC	CGA	CGC																1690

FIG.12 suite